

Das Verhalten des
Nukleinsäurestoffwechsels der Ratte in
Abhängigkeit von hohen Vitamin A-
Gehalten des Blutes

Josef Schaffrath

Aus dem Institut für Physiologie und Ernährung der Tiere
der Universität München
Vorstand: Professor Dr. Dr. Johannes Brüggenmann

Das Verhalten des Nukleinsäurestoffwechsels
der Ratte in Abhängigkeit von hohen Vitamin A-
Gehalten des Blutes



Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Josef Schaffrath
aus
Niederheid

München 1957

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. H. L i e b m a n n

Referent: Professor Dr.Dr.Johannes B r ü g g e m a n n

Tag der Promotion: 24. Juli 1957

LEBENSZEITUNG

Seite 1

1. Einführung

2. Lebenslauf

1. Die Bedeutung des Lebenslaufes & die drei Dimensionen (zeitlich, thematisch & strukturell) sowie die Bedeutung des Lebenslaufes für die Lebensplanung

2. Der Lebenslauf als Dokument

3. Die Bedeutung des Lebenslaufes für die Lebensplanung

4. Die Lebenslaufplanung

5. Der Lebenslaufplan

6. Der Lebenslaufplan als Dokument

7. Die Lebenslaufplanung als Lebensplanungsinstrument

Meinen lieben Eltern

3. Lebenslaufplanung

1. Die Lebenslaufplanung

2. Die Lebenslaufplanung

3. Die Lebenslaufplanung

4. Die Lebenslaufplanung

5. Die Lebenslaufplanung

6. Die Lebenslaufplanung als Lebensplanungsinstrument

4. Zusammenfassung

5. Literaturverzeichnis

6. Lebenslaufplanung

7. Lebenslaufplanung

8. Lebenslaufplanung

Inhaltsverzeichnis

Seite:

A. Einleitung	1
B. Literatur	3
1. Die Bedeutung des Vitamins A für den Organismus unter besonderer Berücksichtigung der Symptome bei Hypo- und Hypervitaminose	3
2. Über die Chemie der Nukleinsäuren	7
3. Lokalisation der verschiedenen Nukleinsäuren	8
4. Die Nukleinsäurebildung	9
5. Der Nukleinsäureabbau	12
6. Über die biologische Bedeutung der Nukleinsäuren	13
7. Die biochemische Beeinflussung des Nukleinsäurestoffwechsels im Organismus	16
C. Eigene Untersuchungen	20
Prinzip der eigenen Untersuchungen	20
1. Versuchsanstellung	20
2. Aufarbeitung	21
3. Chemische Bestimmungsverfahren	22
4. Aufstellung der Eichkurven	23
5. Beispiel zur Berechnung der Nukleinsäurewerte mit statistischer Auswertung	27
D. Ergebnisse	33
E. Diskussion	49
F. Zusammenfassung	54
G. Literaturverzeichnis	55
Lebenslauf	66

Digitized by the Internet Archive
in 2026

A. Einleitung

Obwohl die Nukleinsäuren als Zellbestandteile schon länger bekannt sind, haben sie erst in letzter Zeit wesentliche Beachtung innerhalb der Forschungsgebiete von Biologie und Medizin gefunden. Die Untersuchungen über die direkte Mutation bei Bakterien zeigten, daß Desoxyribonukleinsäure (DNS) ein dauernder Bestandteil des Kernes und der Hauptbestandteil des Erbmaterials in den Chromosomen ist. Mit der weiteren Erkenntnis, daß die Nukleinsäuren bei der Eiweißsynthese eine bedeutende Rolle spielen, wuchs das Interesse an ihrer Erforschung erheblich. So wurde unter anderem auch der Einfluß verschiedener Faktoren auf den Nukleinsäurestoffwechsel der Gewebe untersucht.

Am Institut für Physiologie und Ernährung der Tiere der Universität München wurden in den letzten Jahren Versuche unternommen, die aufzeigen sollten, ob z.B. die biologischen Allgemeinwirkungen des Vitamins A auf eine Beeinflussung des Nukleinsäurestoffwechsels zurückzuführen sind. Unter anderem stellte man die Nukleinsäuregehalte der verschiedensten Organe von Vitamin-A-frei ernährten Ratten den Nukleinsäuregehalten der gleichen Organe von Ratten gegenüber, die zur sonst gleichen Nahrung zusätzlich Vitamin A erhielten. Dabei zeigten sich bei den Mangeltieren gegenüber den Kontrolltieren deutliche Abnahmen der DNS-Gehalte bei den Organen Haut, Hoden, Darm, Nieren und Nebennieren. Bei den Ribonukleinsäure-(RNS)-gehalten waren lediglich im Darm Veränderungen im Sinne einer Zunahme gegenüber den Kontrollen festzustellen (147).

Weiterhin wurden die Organe von Ratten untersucht, denen man 1.000 i.E. Vitamin-A-Palmitat in wässriger Lösung subkutan applizierte. Jeweils 1 Tier wurde mit einem entsprechenden Kontrolltier, dem man die gleiche Menge des reinen Emulsionsmittels verabreichte, nach 12 Stunden getötet, um die Nukleinsäuregehalte der Organe festzustellen. Dabei zeigte sich, daß mit Ausnahme der Leber in allen Organen der Tiere, die Vitamin A injiziert bekamen, sowohl die RNS- als auch die DNS-Gehalte höher lagen als bei den Kontrolltieren (148). Bei diesen Versuchen wurden aber die Nukleinsäuregehalte auf Frischgewicht bezogen, was nicht ganz eindeutige Ergebnisse ermöglicht, da durch Konzentrationsverschiebungen anderer Stoffwechselprodukte (Wasser, Kohlehydrate, Fette, Eiweiß) Fälschungen entstehen können. Nimmt z.B. bei gleichbleibendem Nukleinsäuregehalt das Gesamtgewicht des Organs ab, so wird der Nukleinsäuregehalt pro Gewichtseinheit größer. Steigt das Organgewicht, so wird der Nukleinsäuregehalt pro Gewichtseinheit kleiner.

Ferner wurden bei den bisherigen Versuchen die Nukleinsäuregehalte erst geraume Zeit nach der Vitamin A-Verabreichung bzw. nach Eintritt des Vitamin A-Mangelzustandes festgestellt. Dadurch war es gänzlich unmöglich zu beurteilen, ob die Veränderungen der Nukleinsäuregehalte auf den direkten Einfluß des Vitamins A in den einzelnen Zellen zurückzuführen oder die Folge einer mehr oder weniger spezifischen Wirkung auf übergeordnete Zentren sind, die dann ihrerseits den Gehalt der Zellen an Nukleinsäure beeinflussen.

Um die möglichen Konzentrationsverschiebungen durch unterschiedliche Wassergehalte auszuschließen und um den unmittelbaren Einfluß des Vitamin A auf die Nukleinsäuregehalte in den einzelnen Zellen der verschiedenen Organe zu prüfen, wurde ich mit der Durchführung vorliegender Arbeit betraut.

B. Literatur

1. Die Bedeutung des Vitamins A für den Organismus unter besonderer Berücksichtigung der Symptome bei Vitamin-A-Hypo- und Hypervitaminose.

Die Wirkung des Vitamins A wurde 1909 von W. Stepp (3) entdeckt. Die Synthese des Vitamins A gelang Isler, Huber, Ronco, Kofler (3) und Robeson (51). Es ist löslich in organischen Lösungsmitteln, unlöslich in Wasser, licht- und sauerstoffempfindlich. Das Vitamin A kommt als Fettsäureester im Fischlebertran, in der Säugetierleber, in den Eingeweiden und im Fleisch von Meerfischen, in der Milch, im Rahm, in der Butter, im Eigelb, in der Frauenmilch und im Pigmentepithel der Netzhaut vor. Weitere Quellen bilden bestimmte pflanzliche Karotinoide (=Provitamine A), die im Tierkörper in Vitamin A übergehen. Nach früheren Arbeiten erfolgt die oxydative Aufspaltung der Provitamine zum Vitamin A in der Dünndarmschleimhaut. Eindeutige Beweise für die Umwandlung von β -Karotin in Vitamin A in der Darmwand von Ratten und Schweinen wurden von Thompson und Mitarbeitern erbracht (134). Nach neueren Untersuchungen muß man annehmen, daß auch eine Karotinasewirkung im Leber- und Eutergewebe des Rindes vorhanden ist (143). Die Hauptmenge des resorbierten Vitamins wird von den Zellen der Darmwand nach Veresterung an den Chylus abgegeben, gelangt über den Ductus thoracicus in das Blut des großen Kreislaufs und erst nach Passage durch Lunge und Herz in das Kapillarsystem der Leber (131). Den gleichen Weg nimmt das im Darm resorbierte β -Karotin (132). Nach Johnson und Baumann (112) wird die Bildung von Vitamin A aus Karotin von der Schilddrüse gefördert, während sie durch Thyreostatica, wie zum Beispiel Thiouracil, gehemmt wird.

Das fettlösliche Vitamin A wird besser bei Anwesenheit von Fett in der Nahrung resorbiert. Bei größerem Angebot von Karotin wird ein Teil des Provitamins unverändert gespeichert, wahrscheinlich im Retikuloendothel. Die Speicherung des Vitamins A erfolgt vorwiegend in der Leber, aber auch im Körperfett, besonders in dem des Unterhautzellgewebes; sie erfolgt etwa zu 25% der mit der Nahrung aufgenommenen Menge (102). Neben der Leber speichern auch andere Organe das Vitamin A. Je nach der aufgenommenen Vitaminmenge und je nachdem, ob die untersuchten Tiere vorher viel oder wenig Vitamin A erhalten hatten, wurde ein geringerer oder größerer Teil der verabreichten Dosis in der Leber wiedergefunden. Kleine Vitamin A-Dosen werden hauptsächlich von der Niere gespeichert (122); bei größeren Dosen nehmen neben der Leber auch Lunge und Nebennieren beträchtliche Mengen des Vitamins auf (123). Im allgemeinen nimmt der von der Leber aufgenommene prozentuale Anteil der verabreichten

Vitaminmenge mit steigender Vitamindosis zu (124).

In den Lebern von Ratten, die 1.000, 2.000 und 3.000 i.E. Vitamin A auf mehrere Tage verteilt erhalten hatten, wurden 25%, 42%, 50% und bei 4.000 i.E. Vitamin A ebenfalls 50% der verabreichten Dosis in der Leber wiedergefunden (125).

Bei manchen Tierarten, z.B. Ratten, bestehen erhebliche Differenzen zwischen den Vitamin A-Gehalten der Leber männlicher und weiblicher Tiere und zwar auch dann, wenn männliche und weibliche Tiere unter völlig gleichen Lebensbedingungen gehalten werden (126). Die rascher wachsenden männlichen Ratten speichern weniger Vitamin A in der Leber, dagegen viel mehr in der Niere (127). Bei männlichen Ratten, die 40 i.E. Vitamin A täglich erhielten, enthielten die Leber 9,4 i.E. und die Niere 24,1 i.E. je Gramm frisches Gewebe, bei den weiblichen Kontrolltieren dagegen betrug die Vitamin A-Konzentration pro g Leber 24,4 i.E. und pro g Niere 4,9 i.E. (128).

Auch ist der Vitamin A-Bedarf männlicher junger Ratten größer als der der weiblichen (129); männliche Ratten verbrauchen ihre Vitaminreserven rascher als ihre weiblichen Altersgenossen (130).

Nach C l a u s e n und Mitarbeitern (103) wird der Vitamin A-Alkohol in der Leber in veresterter Form gespeichert; auch die Vitamin A-Ester werden als solche abgelagert (104). Im Blute findet sich nur etwa 1/5 des Vitamins A in Form von Estern, der Rest als Vitamin A-Alkohol (105). Der Gehalt an Vitamin A im Blut bewegt sich nur innerhalb gewisser Grenzen (106) und ist ziemlich unabhängig von der Speicherungsgröße der Leber und von dem Vitamin A-Angebot der Nahrung (107). Normalerweise wird ein Gehalt von etwa 35-40 i.E. pro 100 ccm Blutplasma bei der Ratte gefunden, der allerdings bei Erschöpfung der Vitamin A-Vorräte abnimmt (133).

Die Ausscheidung des Vitamins A erfolgt im allgemeinen über die Faeces (108). Unter normalen Verhältnissen werden Vitamin A und Karotin nicht durch die Nieren ausgeschieden (3). Abbauprodukte der Karotine und des Vitamins A lassen sich jedoch im Harn nachweisen (109).

Über den Wirkungsmechanismus des Vitamins A im Zellstoffwechsel ist noch nichts Endgültiges bekannt. Man nimmt an, daß es beim Kohlehydratstoffwechsel, bei der Umwandlung von Kohlehydraten in Fett, bei der Fettresorption und bei der Fettsynthese nach der Verdauung eine Rolle spielt. Vitamin A wird als Antagonist des Thyroxins angesehen. Thyroxin hebt die Wachstumswirkung des Vitamins A auf und hemmt dessen Speicherung in der Leber. Vita-

min A mildert die Thyroxin-Vergiftung (3).

Nach A b e l i n (113) wird die experimentelle Hyperthyreose der Ratte durch große Dosen von Vitamin A weitgehend gebessert. W e n d t (114) berichtet, daß das Vitamin A im Organismus den Lipoidspiegel des Serums, insbesondere den des Cholesterins steigert.

Die große Bedeutung des Vitamins A für den Organismus wird besonders durch die bei seinem Mangel in der Nahrung auftretenden Symptome deutlich.

Bei Vitamin A-Mangel tritt am Auge die nicht erbliche Form der Nachtblindheit (Hemeralopie) auf, weiterhin Xerosis epithelialis der Bulbus- und Lidbindehaut, die Keratomalazie, Chalazien, Linsentrübungen, sowie Einengung des Gesichtsfeldes für Blau und Gelb.

Zu den Störungen der Haut gehören Hyper- und Parakeratosen, Verminderung der Schweißbildung, Trockenheit und frühzeitiges Ergrauen der Haare.

Im Bereich des Verdauungstracktes sind hervorzuheben Trübung der Mundschleimhaut, Mundwinkelstomatitis, Alveolarpyorrhoe, Wachstumsstörungen der Zähne, Schwinden der Säureproduktion des Magens, Neigung zu Diarrhoen bis zu schleimig-blutigen Stühlen (3).

Von R e b e l (110) wird das Vitamin A für die Schmelzbildung als notwendig erachtet. Ausgedehnte Zahnuntersuchungen an tausend Schulkindern in Hawaii haben ergeben, daß Mangel an den Vitaminen C, D, K und namentlich an A die Entwicklung der Zahnkaries fördern kann (111).

In den Atemwegen macht sich der Vitamin A-Mangel durch Hochwandern der Haut-Schleimhautgrenze in der Nase, durch Abnahme des Riechvermögens, Entstehung von Ozaena, chronische Heiserkeit und Bronchitis bemerkbar. Alle diese scheinbar zusammenhangslosen Krankheitsbilder finden ihre gemeinsame Aetiologie in der durch Vitamin A-Mangel bedingten Epithelveränderung (3).

Am Urogenitalapparat beobachtet man eine starke, zunächst abakterielle Abschlüpfung von Nierenbecken-, Ureteren- und Blasenepithelien. Diese Epithelien bilden die Kerne von Blasen- und Nierensteinen, die durch Vitamin A-Mangel im Tierversuch erzeugt werden können.

An den Sexualdrüsen treten degenerative Veränderungen der Samenkanälchen, des Keimepithels, Erlöschen des Geschlechtstrieves, sowie eine Erschwerung der Befruchtung und der Eiimplantation auf (3).

Störungen im zentralen Nervensystem (Ataxie, Lähmungen, Muskelatrophie) sind

bei Vitamin A-Mangel im Tierversuch beobachtet worden (3).

Klinische Störungen sind jedoch nicht nur bei Fehlen des Vitamins A sondern auch bei Verabreichung sehr hoher Dosen dieses Wirkstoffes zu beobachten.

So konnten im Tierversuch bei Hypervitaminose osteoporotische Prozesse mit Spontanfrakturen, toxisch-degenerative Erscheinungen an Leber, Niere, Hoden, sowie Lungen- und Darmblutungen, als auch Schilddrüsenhypertrophien beobachtet werden (3).

Ratten, die täglich mehr als 100.000 i.E. Vitamin A erhalten, erkranken an Erschöpfung, Appetitlosigkeit, Wachstumsstillstand, Gewichtsverlust (115) und Haarausfall (116). Schließlich kann nach etwa 2-3 Wochen der Tod eintreten (117).

Histologische Untersuchungen ließen unter anderem eine starke Verfettung der Endothelien und Retikuloendothelien in Leber und Milz erkennen. Beim Menschen treten nach Genuß von Leber des Polarbären, die Millionen Einheiten pro Kg enthält, sowie nach hohen Dosen des reinen Vitamins Reizbarkeit, Schwindel, Kopfschmerzen, Erbrechen, Somnolenz, Appetit- und Gewichtsverlust, Haarausfall, sowie Leber- und Milzvergrößerung auf (3).

F r e y und S c h o c k (118) haben im Hinblick auf die pharmakodynamische Wirkung hoher Dosen von Vitamin A bei Patienten mit Psoriasis mehrere Monate lang täglich 400.000 i.E. synthetisches Vitamin A-Azetat (Arovit "Roche") verabreicht. Die histologische Untersuchung ergab an der Lippenschleimhaut parakeratotisch verhorntes Plattenepithel mit Lymphozyten- und Leukozyteninfiltration und Vermehrung der Mitosen in den Reteleisten. Die Epidermis der Stirnhaut war ebenfalls parakeratotisch verändert. Im Papillarkörper waren die polymorphen Bindegewebszellen vermehrt. Ähnliche Hautveränderungen wurden schon früher nach Genuß von Eisbärenleber festgestellt (119).

Werden unphysiologisch hohe Dosen von Vitamin A zugeführt, so daß es zur Hypervitaminose kommt, so entwickeln sich hyperchrome Anämien (120) infolge gesteigerter Hämolyse und Insuffizienz des toxisch geschädigten Knochenmarks.

Der vermehrte Gehalt von Purinen im Gewebe, den man nach reichlichem Vitamin A-Angebot findet, läßt die Vermutung zu, daß es bei der Zellvermehrung eine Rolle spielt (4).

L a s n i t z k i (121) untersuchte die Wirkung hoher Vitamin A-Gaben auf die Mitose von Herzfibroblasten des Kükens, um festzustellen, ob die Zell-

teilung durch Hypervitaminose A beeinflußt wird. Zum Versuch wurden Herzen von 10-11 Tage alten Kükenembryonen verwendet. Bis zum 5. Tag konnte kein Unterschied zwischen Kontroll- und Versuchskulturen bezüglich der Art des Wachstums und der Dichte der Zellkolonien festgestellt werden. Am 7. Tag jedoch war die mitotische Rate in den Versuchskulturen um 50% gestiegen, wobei gleichzeitig eine größere Zelldichte beobachtet werden konnte.

2. Über die Chemie der Nukleinsäuren.

Im Jahre 1889 wurde von Altmann der Name Nukleinsäure für den eiweißfreien Bestandteil der Nukleoproteide eingeführt (149). Inzwischen hat diese Begriffsdefinition, die bis heute noch nicht scharf abgegrenzt ist, eine wesentliche Einengung erfahren. Allgemein faßt man unter Nukleinsäuren eine Gruppe von Verbindungen zusammen, die durch Verkettung zahlreicher Grundbausteine der sogenannten Mononukleotide gebildet werden, wobei ein Mononukleotid sich aus einem Purin- bzw. Pyrimidin-, einem Kohlehydrat- und Phosphorsäureanteil zusammensetzt. Vereinigen sich vier Nukleotide mit verschiedenen Basen, z.B. Adenin, Cytidin, Guanin und Uridin (in der Hefenukleinsäure) oder Adenin, Cytidin, Guanin und Thymin (in der Thymonukleinsäure), so entstehen Tetranukleotide. Man nimmt an, daß durch eine kettenförmige Aneinanderreihung einer großen Zahl von Tetranukleotiden die hochmolekularen Nukleinsäuren aufgebaut werden. Das Verhalten gegen spezifische Enzyme und die Zusammensetzung aus den einzelnen Basen zeigt, daß in DNS ganz sicher keine getrennte Tetranukleotidstruktur vorliegt (6).

Genauere Erläuterungen über den chemischen Aufbau der Nukleinsäuren sind zu finden bei: C h a r g a f f, E., D a v i d s o n, J.N.: The Nucleic Acids (Chemistry and Biology), Academic Press, Inc., Publishers New York 1955. F l a s c h e n t r ä g e r, B., L e h n a r t z, E.: Physiol. Chemie, Springer-Verlag 1954.

Nach S i g n e r und Mitarbeitern (5) liegt das Molekulargewicht der DNS in der Größenordnung von 500.000 bis 1.000.000, das der RNS bei etwa 20.000.

Die Verknüpfung der einzelnen Bausteine der hochpolymeren Nukleinsäuren erfolgt durch Phosphor-Sauerstoff-Brückenbildung.

Man unterscheidet allgemein Desoxyribonukleinsäuren (DNS) und Ribonukleinsäuren (RNS); DNS mit D-2-Desoxyribose und RNS mit D-Ribose als Zuckerbe-

standteil. Da aber außer Desoxyribose und Ribose möglicherweise auch noch andere Pentosen in Nukleinsäuren vorkommen, spricht man auch von Desoxypentosenukleinsäure und Pentosenukleinsäure (142).

Die Versuche verschiedener Autoren lassen keinen Zweifel über das Vorhandensein einer großen Reihe verschiedenartiger Desoxyribonukleinsäuren offen (7). Trotz ähnlicher Zusammensetzung sind die DNSn der Leber mit den DNSn der übrigen Organe nicht identisch. Niere, Milz, Pankreas, Dünndarm, Hoden, Gehirn und die sich regenerierende Leber enthalten zwei Fraktionen von DNS, von denen eine in 0,87% NaCl-Lösung bei 0° - 3° löslich und die andere unlöslich ist (135). Außerdem wurde festgestellt, daß die RNSn aus tierischen Geweben sich untereinander sehr ähneln, aber sich wesentlich von der Hefenukleinsäure unterscheiden, weshalb es auch unmöglich sei, die bei Hefenukleinsäure gewonnenen Ergebnisse ohne weiteres auf die tierischen Nukleinsäuren zu übertragen (7).

Nach C r o s b i e und Mitarbeitern (16) scheint auch ein chemischer Unterschied zwischen Kern- und Zellplasma-RNS zu bestehen.

3. Lokalisation der verschiedenen Nukleinsäuren.

Nukleinsäuren lassen sich aus allen zellreichen Organen gewinnen (8).

Thymonukleinsäure (DNS) wurde erstmals von M i e s c h e r (149) aus Lachs-sperma dargestellt. Inzwischen ist sie in vielen tierischen Organen, z.B. Pankreas, Milz, Leber, Nieren und Lungen nachgewiesen worden. Ob es sich dabei jeweils um den gleichen Nukleinsäuretyp handelt, ist ungewiß.

DNS kommt nur in tierischen und pflanzlichen Zellkernen vor. RNS findet sich bei Pflanze und Tier im Cytoplasma, in den Mikrosomen, in Mitochondrien und in Nukleolen. Die einzelnen Zellbestandteile - Mitochondrien, Mikrosome, der Zellsaft - scheinen nach Versuchen mit N¹⁵-Glykokoll an der partiell hepatektomierten Ratte dieselben RNSn zu enthalten (9).

Eine geringe Menge von RNS wurde in isolierten Chromosomen nach Entfernung der DNS und Histone gefunden (10). So ist also nur ein Teil der Kern-RNS in den Nukleolen enthalten. L i t t und Mitarbeiter (11) sind der Ansicht, daß die Nukleolen neben RNS auch DNS enthalten. Untersuchungen von M c I n d o e und D a v i d s o n (12) zeigen, daß das Verhältnis von RNS zu DNS im Zellkern nach Organ und Tierart variieren kann. C r o s b i e und Mitarbei-

ter (13) stellten fest, daß die Hauptmasse der Zellplasma-RNS in den Mikrosomen, eine geringere Menge in den Mitochondrien und dem Zellsaft vorliegt und daß die Zusammensetzung der RNS verschiedener Zellplasmafraktionen die gleiche ist. Embryonale Zellen sind besonders reich an RNSn, die an einen Eiweißkörper vom Histontypus gebunden sind (14). Entsprechendes gilt für rasch wachsende und sekretionsaktive Zellen, z.B. im Pankreas und in Speicheldrüsen. Der Zellkern embryonaler oder rasch wachsender Zellen ist dagegen verhältnismäßig arm an RNS (15).

4. Die Nukleinsäurebildung.

Bis jetzt sind die Kenntnisse, die man über die Biosynthese der Nukleinsäuren gewonnen hat, noch recht fragmentarisch.

Die Nukleinsäuren sind im Organismus einem fortwährenden Auf- und Abbau unterworfen. RNSn werden mit erheblicher Geschwindigkeit, DNSn dagegen nur relativ langsam neugebildet (17).

Nach Versuchen mit radioaktiven Phosphaten erneuert Rattenleber in zwei Stunden 3,3% RNS, dagegen nur 0,1% DNS (18). Bei ausgewachsenen weißen Ratten betrug die Neubildung von DNS in drei Stunden für den Thymus 5-6%, für Lymphknoten und Milz 1-2% und für die meisten anderen Organe, mit Ausnahme der Darmschleimhaut, noch wesentlich weniger (19). Auch von isolierten Zellkernen können Nukleinsäuren aufgebaut werden. Dabei findet eine Totalsynthese des Puringerüstes statt (20). Zellkerne der Mäuseleber synthetisieren DNS, wobei Adenosintriphosphorsäure als Phosphatquelle dient (21). Isolierte Zellkerne aus Schweinelebern haben die Fähigkeit, radioaktives anorganisches Phosphat (P^{32}) auf fermentativem Wege in RNS und DNS einzubauen (22).

Nach Verfütterung von markiertem N^{15} -Ammoniumzitrat fanden sich bei Tauben und Ratten bemerkenswerte Mengen von N^{15} nur in der RNS der Leber. Die DNS enthielt hingegen nur minimale Mengen von N^{15} (23). Ähnliches wurde beobachtet bei oraler Zufuhr von markiertem Adenin. Die RNS-Fraktion der visceralen Organe nahm 15,9% des Adenins auf, während in die DNS-Fraktion nur 0,55% eingebaut wurden. Für eine vermehrte Synthese von Nukleinsäuren in der sich regenerierenden Leber spricht auch die vermehrte Aufnahme von radioaktivem Phosphor (P^{32}) und markiertem Glykokoll (N^{15}) in die Nukleinsäurefraktionen (25).

In welcher Weise die Nukleinsäuren und ihre Zwischenstufen aus freien Purin-

bzw. Pyrimidinbasen, Pentosen, Phosphorsäuren oder anderen Vorstufen entstehen, ist im einzelnen noch nicht hinreichend bekannt (26).

In den frühen Stadien der embryonalen Entwicklung erfolgt die Synthese der DNS des Zellkerns auf Kosten der RNS des Cytoplasmas. Erst in späteren Entwicklungsstadien werden beide Nukleinsäuren aus unbekannten Vorstufen total synthetisiert (27). Die mit der Nahrung aufgenommenen Nukleoside und niederen Nukleotide werden im Gewebe vollständig hydrolysiert. Nur einige Nukleoside und Oligonukleotide werden direkt zur Synthese der Nukleinsäuren ausgenutzt (28).

Auch die freien Purin- und Pyrimidinbasen der Nahrung gehen, wie Versuche mit markiertem Stickstoff (N^{15}) zeigen, nicht ohne weiteres in die Nukleinsäuremoleküle über. Dagegen werden nach Injektion von N^{15} -Pyrimidinnukleosiden erhebliche Mengen von N^{15} in der Pyrimidingruppe der RNS gefunden (29).

Die Bildung der Polynukleotide erfolgt über komplexe Vorstufen, und zwar über Nukleoside und Purin- bzw. Pyrimidin-Oligonukleotide. Nukleotide entstehen auch auf enzymatischem Wege aus Pentose- bzw. Desoxypentosephosphorsäuren und Purinbasen. Die Ribose- und Desoxyribosephosphate sind damit Schlüsselsubstanzen bei der Biosynthese der Nukleotide (30).

Die Desoxyribosekomponente der Nukleoside und Nukleotide scheint auf enzymatischem Wege von einem Purin- bzw. Pyrimidin-Rest auf einen anderen übertragbar zu sein (31).

Woher die Ribose und Desoxyribose der Nukleoside und Nukleotide stammen, ist noch nicht klar (32).

Autoren, welche mit P^{32} oder mit markierten Purinbasen (Adenin, Guanin) gearbeitet haben, fanden, daß in ruhenden Geweben (z.B. Leber) der Umsatz der Ribonukleotide wesentlich rascher erfolgt als der der Desoxyribonukleotide. Das Verhältnis Umsatz RNS : Umsatz DNS lag bei etwa 60 : 1 (33). Einen ganz außerordentlich geringen Einbau von P^{32} in die Desoxyribonukleotide von Leberzellkernen fanden Mc I n d o e und D a v i d s o n (34).

Die RNS des Zellkerns soll eine beträchtlich höhere Umsatzgeschwindigkeit besitzen als die RNS der Mitochondrien, der Mikrosomen und des Zellplasmas, was durch den Einbau von radioaktivem Phosphor ermittelt wurde (35). Der Befund, daß P^{32} am raschesten in die RNS des Zellkerns aufgenommen wird, später in der RNS des flüssigen Cytoplasmaanteils erscheint und dann erst in

der RNS der Mikrosomen und Mitochondrien nachgewiesen werden kann, hat zu der Vermutung geführt, daß die RNS des Cytoplasmas im Zellkern gebildet, vom Kern in die Cytoplasmaflüssigkeit ausgeschieden und schließlich von den Mitochondrien und Mikrosomen aufgenommen wird (136).

Ferner findet man in enukleierten Geweben eine geringere Menge an extranukleären RNSn (36). C a s p e r s s o n und Mitarbeiter (37) glauben auch, daß der Nukleolus an der Synthese der RNS für das Zellplasma beteiligt ist.

D a o u s t und Mitarbeiter (38) haben die Beziehung zwischen der Erneuerungsrate der DNS und der Mitose an Lungenalveolargewebe untersucht. Sie haben festgestellt, daß die DNS-Synthese, berechnet über den Einbau von P^{32} , doppelt so hoch ist, wie auf Grund der Zellneubildung zu erwarten war. Daraus wurde geschlossen, daß die gesamte DNS der zwei neuen Zellen, die im Laufe der Mitose gebildet werden, neu synthetisiert wird.

Eine mathematische Analyse der experimentellen Zeitkurven über den Einbau von radioaktivem Phosphor (P^{32}) wurde durchgeführt. (39). Diese Ergebnisse stimmen überein mit der Vorstellung, daß Kern-DNS, Kern-RNS und Zellsaft-RNS eine gemeinsame Vorstufe besitzen und daß die Zellsaft-RNS wiederum die Vorstufe der Mikrosomen- und Mitochondrien-RNS darstellt. Widerlegt wird dadurch die Ansicht, daß Kern-RNS als Vorstufe der Zellsaft-RNS oder der RNS der Teilchenbestandteile des Zellplasmas auftreten soll (40).

Da es mir nicht ansteht, ein abschließendes Urteil über die mannigfaltigen Ergebnisse des Nukleinsäurestoffwechsels zu fällen, sei hier C h a r - g a f f s und D a v i d s o n s zusammenfassende Ansicht (41) wörtlich zitiert: "Obwohl viele Theorien betreffs des Ursprungs dieser Verbindungen aufgestellt wurden, können wir noch nicht entsprechend die Prozesse beschreiben, wodurch Nukleinsäuren in der lebenden Zelle gebildet werden. Daran ist einerseits die verwickelte Natur der Nukleinsäuren und andererseits das mangelhafte Verständnis der Verschiedenartigkeit der Substanzen schuld. Mit ziemlicher Sicherheit darf man auch annehmen, daß die RNS und DNS einer Art verschieden sind von denen anderer Arten, daß innerhalb einer einzigen Art eine Vielfalt von Ribonukleinsäuren, die sich von Gewebe zu Gewebe unterscheiden und daß innerhalb jeder Zelle verschiedene stoffwechselmäßig sich unterscheidende Ribonukleinsäuren vorhanden sind. Obgleich der Begriff der "Konstanz" der Zusammensetzung der DNS innerhalb einer Art vorherrscht, wurde neulich gezeigt, daß die DNS eines einzelnen Organs in zwei Fraktionen getrennt werden kann. Wegen der universalen Verteilung der

Nukleinsäuren und ihrer offenbaren Bedeutung für Zellprozesse, überrascht es nicht, daß der Organismus die Biosynthese der Nukleinsäuren aus einfachen und allgemein verfügbaren Stoffen durchführen kann. Sowohl wachsende, als auch ausgewachsene Tiere sind fähig, Nukleinsäuren zu synthetisieren und nicht von äusseren Quellen an Purinen, Pyrimidinen oder Zucker für diese entscheidenden Verbindungen abhängig; kein organischer Bestandteil der Nukleinsäuren ist in der Nahrung erforderlich."

5. Der Nukleinsäureabbau.

Die aus endogenen und exogenen Quellen stammenden Nukleinsäuren werden im Tierkörper entweder wieder verwertet oder zu niederen Produkten abgebaut und dann hauptsächlich im Harn ausgeschieden. Sowohl bei enteraler als auch bei parenteraler Zufuhr erscheinen Nukleinsäuren als solche nicht im Harn (42).

Die Gewebe besitzen die Fähigkeit, Nukleinsäuren mittels Nukleasen in die einfachen Bausteine Purine oder Pyrimidine, D-Ribose bzw. 2-Desoxyribose und Phosphorsäure zu spalten. Die Ribonukleotidase ist ein thermostabiles kristallisierbares Enzym, das bei einem pH-Optimum von etwa 8,5 RNS in Mononukleotide zerlegt. Ob das Ferment auf RNS spezifisch wirkt, muß noch geklärt werden. Desoxyribonukleotidase, ein thermolabiles bei pH 6,9-8,4 optimal wirkendes Ferment depolymerisiert nur DNS (43).

Die getrennte Untersuchung der Aktivität der Ribonuklease von Zellkern, Mitochondrien, Mikrosomen und überstehender Cytoplasmaflüssigkeit der Leberzellen ergab, daß in diesen Zellfraktionen zumindest 2 verschiedene Ribonukleasen enthalten sind, von denen die eine etwa bei pH 5,8, die andere bei pH 7,8 optimal wirkt. Es ist möglich, daß eines dieser Enzyme (pH-Optimum 7,8) bei der Synthese der RNS und das andere (pH-Optimum 5,8) bei ihrem Abbau zur Wirkung kommt. In den Zellkernen ist vor allem die bei pH 7,8 optimal wirkende Ribonuklease vorhanden, während die Mitochondrien beide Ribonukleasen enthalten (137).

Auch die Desoxyribonukleaseaktivität des Lebergewebes ist zwei verschiedenen Enzymen zuzuschreiben, die sich in ihrem pH-Optimum unterscheiden (138).

Die Polynukleotidasen der einzelnen Organe haben verschiedene pH-Wirkungsoptima (44). Ribonukleotidase wird durch Röntgenstrahlen inaktiviert (45),

durch Penicillin gehemmt (46). Penicillin scheint in die Dissimilation der zellulären RNS einzugreifen.

6. Über die biologische Bedeutung der Nukleinsäuren.

Die Bindungsfähigkeit der Nukleinsäuren an Eiweißkörper ermöglicht den Aufbau der Nukleoproteide, die einen leicht abspaltbaren und einen fest gebundenen basischen Eiweißanteil besitzen. Die Nukleoproteide bilden den Hauptbestandteil des Chromatins, d.h. der Zellkernsubstanz, die sich zu Chromosomen umbilden kann. Damit stellen die Nukleoproteide das chemische Substrat der Erbkörperchen, der Gene, dar, die das gesamte Zellwachstum und die Zelldifferenzierung bestimmen. Die Fähigkeit bestimmter Nukleoproteide zur Autoproduktion berührt das Grundproblem des Zellwachstums und so des Zellebens schlechthin. Die im Mittelpunkt des Wachstumsprozesses stehende Vermehrung der Nukleoproteide beruht nicht so sehr auf einer Beschleunigung der synthetischen Vorgänge, als vielmehr auf einer Verlangsamung der Abbauvorgänge (50).

Wahrscheinlich kommt es von bestimmten Keimolekülen in einem sich aus Nukleoprotein aufbauenden Mutterboden (Matrix) zur Anlagerung von monomolekularen Peptidketten an der Oberfläche der Keimoleküle. Die Nukleoproteide ähneln in mancher Hinsicht den Virusteilchen, die auch Nukleoproteide sind, und sich bei End-zu-End-Anhaftung vermehren können. Das Virusnukleoprotein wird geradezu als Bindeglied zwischen Molekül und Bakterium, zwischen unbelebter und belebter Substanz angesehen, so daß man kaum eine eindeutige Definition für tote Materie bzw. Lebewesen finden kann (50).

Bei der Teilung der Chromosomen bildet sich hochmolekulares, feindifferenziertes gextragendes Kerneiß vom Globulintyp. Diese Eiweißsynthese im Kern geht nur in Gegenwart von Nukleinsäuren vor sich. Sie bedingt eine Anschwellung der Chromosomen und schließlich eine Verschmelzung derselben miteinander. Mit dem in den Zellkernen von den DNSn gesteuerten Vorgang läuft im Cytoplasma eine ähnliche von den RNSn eingeleiteten Synthese einfacherer Eiweißkörper vom Hystontyp parallel (50).

Diploide Körperzellen enthalten doppelt soviel DNS wie eine haploide Ei- oder Spermazelle (114). In Eizellen und Spermatozoen ist der Gehalt an DNS gleich groß und hinsichtlich seines absoluten Wertes, wie bei somatischen Zellen von der Zahl der Chromosomensätze abhängig. Die Tatsache, daß der DNS-

Gehalt des Zellkerns pro Chromosomensatz in der Ratte konstant ist, wurde durch T h o m s o n und F r a z e r (65) bestätigt. Sie fanden, daß der Koeffizient der Veränderung des DNS-Gehaltes des einzelnen Kernes wahrscheinlich $1/6$ nicht überschreitet.

In allen Zellen findet man in Zeiten vermehrter Eiweißproduktion vermehrt Nukleinsäuren, so namentlich in den Leber- und Pankreaszellen (52).

Da Nukleinsäuren im Kern und Cytoplasma vorkommen, kann auch in beiden Eiweiß synthetisiert werden. Die DNS beherrscht wohl die Synthese des spezifischen Kerneiweißes, das bei der Bildung des diploiden Chromosomensatzes als Chromosomenbestandteil auftritt. Die RNS reguliert die Synthese des Eiweißes im Cytoplasma und desjenigen, das von der Zelle nach außen abgegeben wird, wie zum Beispiel in der Leberzelle die Synthese der Plasmaproteine für das Blut und die Sekretproteine in der Pankreaszelle. Im allgemeinen enthalten die Gewebe mehr RNS als DNS. Alle Zellen mit lebhaftem Eiweißumsatz sollen große Kernkörperchen besitzen. Dort befindet sich die RNS und dort soll die Synthese der Proteine beginnen.

Im normalen Zellgeschehen wird die RNS nach Versuchen mit radioaktivem P^{32} viel lebhafter umgesetzt als die DNS. Es wird eben mehr Cytoplasma und Sekret-eiweiß gebildet als Kerneiweiß. Lediglich kurz vor der Zellteilung wird mehr DNS umgesetzt (52).

Daß man die Schlußfolgerungen, die gewöhnlich aus Versuchen mit radioaktiven Substanzen gezogen werden, äußerst kritisch betrachten muß, beweisen M u n r o und Mitarbeiter (49), die feststellten, daß eine erhöhte Energiezufuhr durch die orale Aufnahme energiereicher Nahrungsstoffe zwar den Einbau von P^{32} in die Leber-RNS erheblich steigert, ohne jedoch dabei eine Konzentrationserhöhung der Leber-RNS erkennen zu lassen.

Die Übereinstimmung eines hohen RNS- und DNS-Gehaltes mit dem Vorhandensein großer Mengen von Proteinen in sich entwickelnden Küken- und Mäuseembryonen stützt die Ansicht, daß Nukleinsäuren für die Proteinsynthese von Bedeutung sind (53).

Ogleich höhere Konzentrationen an RNS oft in embryonalen Geweben gefunden werden, brauchen sie nicht immer die Phase der intensiven Proteinanhäufung zu begleiten (54).

Die Untersuchungen über die direkte Mutation an Bakterien lassen die bedeutende Rolle der DNS für den chemischen Bau der Gene erkennen. Diese Erkennt-

nis führte auch zu der Hypothese, daß die DNS sowohl ein dauernder Bestandteil des Kernes und der Hauptbestandteil der Erbmalträger in den Chromosomen ist, als auch in gleicher Menge in allen Zellen eines Tieres, mit Ausnahme der haploiden Zellen, vorhanden sein muß. Dies konnte durch Untersuchungen von D a v i d s o n und Mitarbeitern (55) bestätigt werden.

Das DNS-Molekül scheint ziemlich beständig zu sein. B e n d i c h (56) berechnete, indem er regenerierende Leber und radioaktives Adenin benutzte, eine Lebenszeit von ungefähr 50 Tagen für die DNS-Fraktion und von ungefähr 8 Tagen für die RNS bei Ratten.

Zwischen RNS und DNS besteht stoffwechselmäßig ein großer Unterschied. Die DNS zeigt während des größten Teiles des Zellebens keine erheblichen Konzentrationsschwankungen, wogegen der Gehalt an RNS sich beträchtlich verändern kann. Dies läßt daran denken, daß DNS verhältnismäßig träge, RNS dagegen aktiv in die Stoffwechselprozesse der Zelle verwickelt ist. Größere Umsatzraten der DNS sind in proliferierenden Geweben, wie in der Darmmukosa, im Knochenmark und in der sich regenerierenden Leber festzustellen (57).

So beobachteten B e r g s t r a n d und Mitarbeiter (58), daß nach Verabreichung von Glycin (N^{15}) an Ratten mit normaler oder sich regenerierender Leber, der Isotopengehalt der Kern-RNS bei weitem den der Zellplasma-RNS übertraf.

M a r s h a k und C a l v e t (59), die radioaktives Phosphat benutzten, zeigten, daß die RNS des Kernes P^{32} viel schneller assimilierte als die RNS des Zellplasmas. Während die Umsatzrate der Kern-RNS nach der Verabreichung der Isotopen schnell anstieg und bald danach plötzlich abfiel, stieg die der Zellplasma-RNS viel langsamer und erreichte das Maximum viel später als die der Kern-RNS. Ähnliche Untersuchungen von B a r n u m (39), A n d e r s o n und A q v i s t (61) ließen das gleiche Ergebnis erkennen.

Alle diese Beobachtungen lassen keinen Zweifel an der unabhängigen Natur der Kern-RNS und ihrer großen Stoffwechselbedeutung offen. Obwohl der Anteil der Kern-RNS an der Gesamtzell-RNS gering ist, bedeutet die Tatsache, daß sie eine solch relativ hohe Stoffwechseltätigkeit erkennen läßt, wie durch die Isotopenversuche bewiesen wurde, daß der gesamte Umsatz der Kern-RNS pro Zeiteinheit nicht viel geringer ist, als der Gesamtumsatz der Zellplasma-RNS. Die volle Bedeutung dieser stoffwechselaktiven RNS ist vorerst noch unklar (62).

Die praktische Bedeutung des konstanten DNS-Gehaltes des ruhenden Kernes wur-

de vor allem durch D a v i d s o n und L e s l i e (64) hervorgehoben. Seine Bestimmung kann Aufschlüsse über die Gewebsentwicklung engverwandter Tierarten und über eine mögliche Polyploidie in sich entwickelnder Vitalprozessen geben.

In einer eingehenden Untersuchung von bösartigen Geschwülsten des Menschen zeigten L e u c h t e n b e r g e r und Mitarbeiter (66) eine deutliche Abweichung des DNS-Gehalts des Kernes von der Norm, die sie auf mitotische Tätigkeit zurückführten.

Die gleichen Forscher (67), die den DNS-Gehalt der Spermien von 6 000 Männern untersuchten, stellten fest, daß bei fruchtbaren Männern immer der gleiche charakteristische Gehalt an DNS, bei unfruchtbaren Männern bedeutend niedrigere DNS-Werte gefunden wurden.

7. Die biochemische Beeinflussung des Nukleinsäurestoffwechsels im Organismus

Obwohl die Nukleinsäurekonzentration der Gewebe zweifellos von den verschiedensten Bedingungen abhängig ist, wie z.B. vom Ernährungszustand und dem Grad physiologischer Leistungen, sind nur wenige Agentien bekannt, die mit Sicherheit eine direkte Funktion bei der Biosynthese der Nukleinsäuren besitzen. Auch ist der Mechanismus ihrer Wirkung in diesem synthetischen Prozeß unbekannt. Viele Versuche sind beschrieben worden, in denen die Darreichung eines Stoffes und die Herbeiführung eines bestimmten physiologischen Zustandes bei einem Tier Veränderungen des Gehaltes oder Erneuerungen von Gewebenukleinsäuren bewirkten. Daraus folgt aber nicht, daß solche Stoffe direkt in die Biosynthese eingreifen. Z.B. bewirken Agentien, die eine Hyperplasie veranlassen, auch eine Erhöhung der Nukleinsäurekonzentration. In den meisten Fällen ist es unmöglich zu bestimmen, ob die erhöhte Nukleinsäurebildung die Ursache oder Folge der erhöhten mitotischen Tätigkeit ist (141). So wurde berichtet (68), daß die Verabreichung von Progesteron an kastrierte Kaninchen ein Ansteigen der Nukleinsäuresynthese im Endometrium zur Folge hatte. Da dieses Hormon jedoch dafür bekannt ist, daß es ausge dehnte Proliferationen des Endometriums auslöst, braucht man ihm dennoch nicht zwangsläufig einen direkten Einfluß auf die Nukleinsäuresynthese zuzuschreiben. Gleichermaßen ist die Herbeiführung der Zellhypertrophie oft mit einem Anstieg der RNS der Zelle verbunden (69).

L o w e und B a r n u m (70) fanden, daß der RNS-Gehalt der Leber vom

megaloblastischen Affen, die Folsäuremangel aufwiesen, niedriger als derjenige normaler Tiere ist und daß Folsäuretherapie sich in einem Anstieg der RNS äusserte.

Nach D r y s d a l e und Mitarbeitern (72) besitzen Folsäure und p-Aminobenzoessäure eine spezifische Funktion bei der Nukleinsäuresynthese.

Die RNS- und DNS-Gehalte der Leber von Ratten, die an Vitamin B₁₂-Mangel leiden, sind geringer als diejenigen normaler Tiere (73). Wenn sämtliche B-Vitamine oder auch nur Vitamin B₁ in der Nahrung fehlen, kann im Knochenmark der Ratte der Gehalt an RNS und DNS bis zu 50% abnehmen (139).

Bei Ratten, die an Vitamin E-Mangel leiden, ist ein höherer Gehalt, verglichen mit Normaltieren, sowohl an RNS als auch an DNS in der Skelettmuskulatur und an DNS in der Leber festzustellen (74).

Obwohl zahlreiche Vitamine für die Bildung der DNS und ihrer Bausteine nötig sind, bildet die Vitaminzufuhr nicht den begrenzenden Faktor für die Bildung der DNS in der normalen Leber, in der die Mitosenhäufigkeit und die Bildungsgeschwindigkeit der DNS ohnedies nur gering sind. Zusatz von Ascorbinsäure in vitro beschleunigte zwar die Bildung der DNS in Schnitten rasch wachsender Rattensarkome, nicht aber in normaler Meerschweinchenleber (75).

Bei Meerschweinchen, die an Vitamin C-Mangel sterben, steigen in der Leber der RNS- und DNS-Gehalt pro Gewichtseinheit bedeutend, während der Durchschnitts-DNS-Gehalt pro Kern unverändert bleibt (86).

Ein Ansteigen des RNS-Gehaltes im Uterus und der Vagina von kastrierten Mäusen (76) und im Uterus von kastrierten Ratten (77) wurde durch Injektion von Östradiol hervorgerufen. Der Nukleinsäuregehalt und der Umfang des Einbaues von P³² in die Nukleinsäure des Uterus kastrierter Kaninchen vermehrten sich ebenfalls durch Behandlung von Östradiol (68).

Bei der Untersuchung des Wachstums des explantierten Kükenherzens wurde festgestellt (78), daß in mit Insulin behandelten Kulturen der RNS-Gehalt pro Zelle höher war als in unbehandelten Kulturen. Dabei bestand aber kein bedeutender Unterschied zwischen behandelten und unbehandelten Kulturen hinsichtlich des Lipoid- und Proteingehaltes.

Embryonales Blut und embryonale Leberzellen des Kükens weisen viel höhere Mengen an Gesamtnukleotiden als die entsprechenden ausgereiften Zellen auf (79). Bei Schafen ist der Gesamtnukleinsäuregehalt pro Einheit Trockengewicht in embryonalen Geweben immer größer als in ausgereiften (80).

In der Gehirnrinde des Meerschweinchens ist der DNS-Gehalt pro Gewichtseinheit am 25. Tag der Schwangerschaft siebenmal so hoch wie bei erwachsenen Meerschweinchen (81). Dieses Ergebnis stimmt mit den beobachteten Veränderungen in der Zahl der Zellkerne pro Raumeinheit der Rinde überein (82).

In wachsendem Hirngewebe kann ein bemerkenswerter Zusammenhang zwischen Wachstum und Gehalt an Protein-N, Phosphatiden und Ribonukleoproteiden festgestellt werden, der der funktionellen Einheit von Wachstum, Zunahme an Nukleinsäure und gesteigerter Eiweißsynthese entspricht (63).

M a n d e l und seine Mitarbeiter (83) fanden nach einseitiger Nierenentfernung, daß die Größenzunahme der anderen Niere innerhalb von 80 Tagen von einem 37%igen Anstieg an DNS begleitet war und schlossen daraus auf einen entsprechenden Anstieg in der Zellzahl. Jedoch K u r n i c k (84) berichtete, daß das Wachstum der verbleibenden Niere eine wirkliche Hypertrophie ohne bedeutende Hyperplasie darstellt.

Nach T h o m s o n und Mitarbeitern (85) werden der DNS-Gehalt der Rattenleber und der durchschnittliche Gehalt der DNS pro Kern durch 72 stündiges Hungern, eine hohe Fettdiät für 35 Tage, oder durch eine proteinfreie Diät bis zu 15 Tagen nicht bedeutend verändert. Jedoch sinkt das Durchschnittszellgewicht dabei um ungefähr 35 %, der durchschnittliche Zellgehalt an Phosphorlipoiden, Protein und RNS um ungefähr 20-30 %; bei länger dauerndem Proteinmangel steigt der RNS-Gehalt jedoch wieder an. Die Verminderung der Cytoplasmamenge führt zu einer relativen Vermehrung der Zellkernmasse und damit zu einer relativen Vermehrung der DNS (71).

Bei jungen Ratten, die noch wachsen, scheint proteinfreie Ernährung eine echte, nicht durch Cytoplasmawund verursachte Vermehrung der Menge an DNS zu bewirken (99).

Diese Veränderung erklären T h o m s o n und Mitarbeiter (85) durch die Tatsache, daß Proteinmangel bei noch wachsenden Tieren Wachstum und Mitose in größerem Umfange verhindert, wohingegen die praemitotische Synthese von DNS erhalten bleibt, die zu einem erhöhten DNS-Gehalt pro Zellkern führt.

Unzureichende Blutversorgung der Leber führt zu einer Abnahme der RNS. Wurde bei Mäusen durch Abbinden des Hilus eines Leberlappens eine lokale Ischämie bewirkt, so sank der RNS-Gehalt in dem ischämischen Abschnitt des Lebergewebes im Mittel von 4,7% auf 1,2% der Trockensubstanz, während die Menge der DNS unverändert zu 2-2,4% erhalten blieb (140).

Nach einer täglichen Injektion von 20 mg Cortison-Azetat fand man nach 7 Ta-

gen bei Kaninchen hypertrophische Lebern, in denen die Gehalte an Protein und RNS bezogen auf DNS stark angestiegen waren (87).

Im allgemeinen ist bei vermehrter Fetteinlagerung eine Erniedrigung der DNS- und RNS-Konzentration festzustellen. So konnte gezeigt werden, daß Mäuseleber nach Cortison-Behandlung diese Veränderung aufweist (88).

M a n d e l und Mitarbeiter (89) berichten, daß nach der Injektion von Thyroxin (1 mg pro Tag) bei Ratten das Nierengewicht um 21 - 32 %, der Proteingehalt um 15 - 26 %, der RNS-Gehalt um 26 - 33 % und der DNS-Gehalt um 22 - 32 % anstiegen. Ähnliche Zunahmen der Milz beliefen sich auf 35 - 60 % (90). Diese Veränderungen resultierten aus der Hyperplasie der Organe; Veränderungen in der Zellzusammensetzung waren nicht festzustellen. Eine Zunahme der RNS findet man auch in Lebern bei trächtigen Mäusen und Meerschweinchen, jedoch nicht bei Katzen (91).

A l f e r t und B e r n (93) stellten keine Veränderungen des Kern-DNS-Gehaltes in Uteruszellen während der Brunst fest.

Kastration und die folgende Injektion von Testosteron haben relativ geringen Einfluß auf den Nukleinsäuregehalt der Leber bei männlichen und nicht-trächtigen weiblichen Ratten (94).

Die Entfernung der Nebenniere verursacht bei tragenden Ratten eine Zunahme der RNS und DNS in Lebern (92).

M e n t e n und W i l l m s (95) fanden bei der perniziösen und megaloblastischen Anämie des Menschen den Durchschnitts-DNS-Gehalt pro Kern im Knochenmark fast um das Doppelte des normalen diploiden Gehaltes erhöht. Durch Behandlung mit Vitamin B₁₂ sinkt der DNS-Gehalt, bis das Knochenmark wieder normal ist (96).

In Rattenmilz erzeugte X-Bestrahlung eine starke Verringerung im RNS- und DNS-Gehalt pro Organ (97).

Gammastrahlen, die auf Kaninchenknochenmark einwirkten, riefen eine Verringerung der Konzentration von RNS und DNS hervor, jedoch wurde der Durchschnittsgehalt an DNS pro Kern in den Markzellen nicht verändert (98).

C. Eigene Untersuchungen.

Prinzip der eigenen Untersuchungen.

Mit den eigenen Untersuchungen sollte festgestellt werden, ob das Vitamin A einen unmittelbaren Einfluß auf die Nukleinsäuregehalte in den verschiedenen Organen besitzt. Deshalb wurde der Organismus von Ratten, die als Versuchstiere dienten, für drei Stunden durch intravenöse Dauerinfusion mit Vitamin A überflutet. Anschließend wurde das Versuchstier gleichzeitig mit einem entsprechenden Kontrolltier getötet. Ihre Organe wurden paarweise aufgearbeitet und die DNS- und RNS-Gehalte bestimmt. Die Nukleinsäurewerte der Versuchsratten wurden mit den entsprechenden Werten der Kontrolltiere verglichen und für auftretende Differenzen die statistische Sicherheit ermittelt.

1. Versuchsanstellung.

Die Versuchsgruppe umfaßte insgesamt 30 normal ernährte männliche Ratten mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 80-100 Gramm. Jeweils 2 Ratten von gleichem Gewicht, von denen die eine als Versuchs- die andere als Kontrolltier diente, wurden bei einem Versuch verwendet. Zunächst wurde die Ratte, die als Versuchstier diente, durch einmalige intraperitoneale Injektion von 1,5 - 2 ccm einer 8%igen Urethanlösung narkotisiert. (Durch Narkoseversuche an 80 g schweren Ratten konnte festgestellt werden, daß die Tiere nach einmaliger intraperitonealer Injektion von 2 ccm einer 8%igen Urethanlösung während einer 7-tägigen Beobachtungszeit keinerlei Beeinträchtigung ihres Gesundheitszustandes erkennen ließen. Die Narkosedauer betrug 8-10 Stunden.) Operationsreife Narkose trat nach 10-15 Minuten ein. Darauf wurde die Ratte in Rückenlage auf einem zu diesem Zweck besonders hergerichteten Operationstisch an den Extremitäten und am Kopf fixiert. Durch Hautschnitt wurde die vena jugularis freigelegt. Mit Hilfe eines geeigneten Dosiergerätes erfolgte dann eine intravenöse Vitamin A-Dauerinfusion über einen Zeitraum von etwa 3 Stunden hinweg. 1.000 i.E. Vitamin A-Alkohol wurden pro ccm Ringerlösung, die das Präparat Tween 40 in Höhe von 1 % enthielt, emulgiert. 3 ccm dieser Lösung wurden der Ratte infundiert, also 3.000 i.E. Vitamin A-Alkohol. Sofort nach Beendigung der Infusion wurde die Ratte durch Dekapitation getötet und entblutet.

Danach unterlag das Kontrolltier den gleichen Versuchsbedingungen, nur wurden ihm 3 ccm der reinen Emulsionslösung ohne Vitamin A verabreicht.

2. Aufarbeitung.

Nach dem Entbluten wurden die Organe der beiden Ratten in gleicher Weise behandelt und aufgearbeitet.

Folgende 10 Organe wurden zur Bestimmung ihrer Nukleinsäuregehalte verwendet: Haut, Hoden, Darm, Milz, Nebenniere, Niere, Leber, Herz, Lunge und Gehirn. Diese Organe wurden mit Ausnahme der Nebenniere halbiert, um den einen Teil der chemischen Aufarbeitung auf die Gehalte an DNS und RNS zu unterwerfen, den anderen Teil einer Trockensubstanzbestimmung zu unterziehen.

Zur Untersuchung der Haut diente ein ca. 3 cm² großes Stück der regio mesogastrica, welches nach dem Abrasieren der Haare herausgeschnitten wurde. Anhaftende Fettbestandteile wurden entfernt und das Hautstück in zwei etwa gleich große Stücke geteilt.

Von den Hoden wurden nach Entfernung von Fett- und Bindegewebsteilen und den Nebenhoden einer zur Aufarbeitung und einer zur Trockensubstanzbestimmung verwendet.

Ein etwa 12 cm langes Stück Dünndarm wurde nach mehrmaliger Durchspülung mit Ringerlösung mit der Schere zerkleinert und in zwei Hälften geteilt.

Die Milz wurde nach Entfernung von Bindegewebsteilen halbiert.

Die Nebennieren wurden sorgfältig von anhaftenden Fett- und Bindegewebsteilen befreit. Wegen der geringen Größe und des kleinen Gewichtes war es aus technischen Gründen nicht möglich, eine Nebenniere für die Trockensubstanzbestimmung zu verwenden. Bei diesem Organ wurde daher der DNS- und RNS-Gehalt auf Frischgewicht bezogen.

Die Nieren wurden aus ihrer Kapsel herausgeschält und eine zur Nukleinsäurebestimmung, die andere zur Trockensubstanzbestimmung herangezogen.

Die Leber wurde von anhaftendem Fett- und Bindegewebe befreit, mit einem Skalpell fein zerkleinert und der so gewonnene Brei halbiert.

Das Herz wurde durch einen Längsschnitt, der durch beide Kammern verlief, geteilt.

Die Lunge wurde von ihren Hauptbronchien befreit, in kleine Stücke geschnitten, homogenisiert und halbiert.

Das Gehirn wurde einschließlich Kleinhirn aus der Schädelkapsel herausgelöst, von abzweigenden Nervensträngen befreit und durch Längsschnitt in der Gehirnfurche geteilt.

Auf nummerierten und vorher abgewogenen Objektträgern wurden die halbierten Organe gewogen. Dann wurden die Hälften der Organe, die zur Trockensubstanzbestimmung dienen sollten, für 12 Stunden bei 60° im Trockenschrank gehalten und danach nochmals gewogen. Daraus ließ sich der prozentuale Wassergehalt ermitteln, der zur Errechnung der Trockensubstanzgewichte der Organteile zugrunde gelegt wurde.

Diejenigen Organhälften, deren Nukleinsäuregehalte bestimmt werden sollten, wurden in eine Reibschale gebracht und mit einer Spatelspitze Seesand verrieben. Die Aufarbeitung der einzelnen Organhälften bis zum Nukleinsäureextrakt erfolgte im Prinzip nach der Methode von K o s t e r l i t z (145). Die verriebenen Organteile wurden mit 5 %iger Trichloressigsäurelösung zwecks Ausfällung der Nukleoproteide behandelt. Die Aufschlammung wurde quantitativ in ein Zentrifugenglas verbracht und 5 Minuten lang zentrifugiert. Daraufhin wurde die überstehende Flüssigkeit abgegossen und der Niederschlag noch einmal mit 5%iger Trichloressigsäure nachgewaschen und abzentrifugiert. Um die Fette und Lipide zu entfernen, wurde der Niederschlag mit Äthanol, darauf mit einem heißen Alkohol-Äther-Gemisch (3:1) und dann noch einmal mit Äthanol gewaschen und abzentrifugiert. Nach Entfernung der Lipoidfraktion wurden aus dem Rückstand die Nukleinsäuren durch Hydrolyse mit einer 6%igen Perchlorsäurelösung (20 Minuten bei 90°C) herausgelöst und quantitativ in einen kleinen Meßzylinder abfiltriert. Mit 6%iger Perchlorsäurelösung wurde der Rückstand nachgewaschen. Die jeweiligen Mengen des Perchlorsäureextraktes in ccm pro Organ wurden für die spätere Berechnung festgehalten.

3. Chemische Bestimmungsverfahren.

In dem gewonnenen Perchlorsäureextrakt wurden die DNS und RNS quantitativ colorimetrisch über ihre Pentoseanteile bestimmt.

DNS wurde nach der Methode von B e r g o l d und P i s t e r (1) erfaßt: Von dem abgemessenen Perchlorsäureextrakt wurden je 0,5 ccm in 4 Reagenz-

gläser pipettiert. In das 1. Reagenzglas (Blindwert) gab man 1 ccm Blank-Reagenz (100 ccm destillierten Eisessig und 1,5 ccm N-freie konzentrierte Schwefelsäure), in die übrigen 3 Reagenzgläser je 1 ccm Dische-Reagenz (1,0 g Diphenylamin und 100 ccm destillierten Eisessig und 1,5 ccm N-freie konzentrierte Schwefelsäure), in die übrigen 3 Reagenzgläser je 1 ccm Dische-Reagenz (1,0 g Diphenylamin und 100 ccm destillierten Eisessig und 1,5 ccm N-freie konzentrierte Schwefelsäure). Die Proben wurden 15 Minuten ins kochende Wasserbad gestellt und anschließend 10 Minuten unter fließendem Wasser gekühlt. In das erste Reagenzglas wurde nun 1 ccm Dische-Reagenz, in die anderen drei je 1 ccm Blank-Reagenz hinzugefügt. Nach gutem Durchmischen wurde die Extinktion am Eppendorf-Photometer bei Filter Hg 578, Photozelle 90 b gegen den Blindwert gemessen. Von den drei erhaltenen Extinktionswerten nahm man den arithmetischen Mittelwert, der über die entsprechende Eichkurve den DNS-Gehalt pro g Organtrockensubstanz erkennen ließ.

Die RNS wurde nach dem Verfahren von M e j b a u m (2) bestimmt: Wegen der Empfindlichkeit der Methode war es erforderlich, die Extrakte der einzelnen Organe vorher mit 6%iger Perchlorsäure auf 1/5 bzw. 1/10 zu verdünnen. Ein ccm des verdünnten Perchlorsäureextraktes wurde mit 2 ccm Orcin-Reagenz (0,1%ige FeCl_3 -Lösung in konzentrierter HCl und 5 mg Orcin pro ccm) versetzt und 20 Minuten im Wasserbad gekocht. Pro Organextrakt wurden drei Parallelproben der quantitativen Bestimmung unterworfen. Nach Abkühlung auf Zimmertemperatur wurde die Extinktion der Lösung am Stufenphotometer bei Filter S 61 gegen Wasser bestimmt. Von den drei erhaltenen Werten wurde das arithmetische Mittel zur Errechnung der RNS in mg/g Trockensubstanz gebildet.

4. Aufstellung der Eichkurven.

Als Standard für die Herstellung der Eichkurven dienten ein DNS- und RNS-Präparat der Firma "Schuchardt"-München. Die Präparate wurden in einer 1%-igen Natriumbikarbonatlösung aufgenommen, mit 6%iger Perchlorsäurelösung die gewünschten Verdünnungen hergestellt und dann nach den vorher beschriebenen Methoden bearbeitet. Folgende Eichkurven wurden dabei aufgestellt:

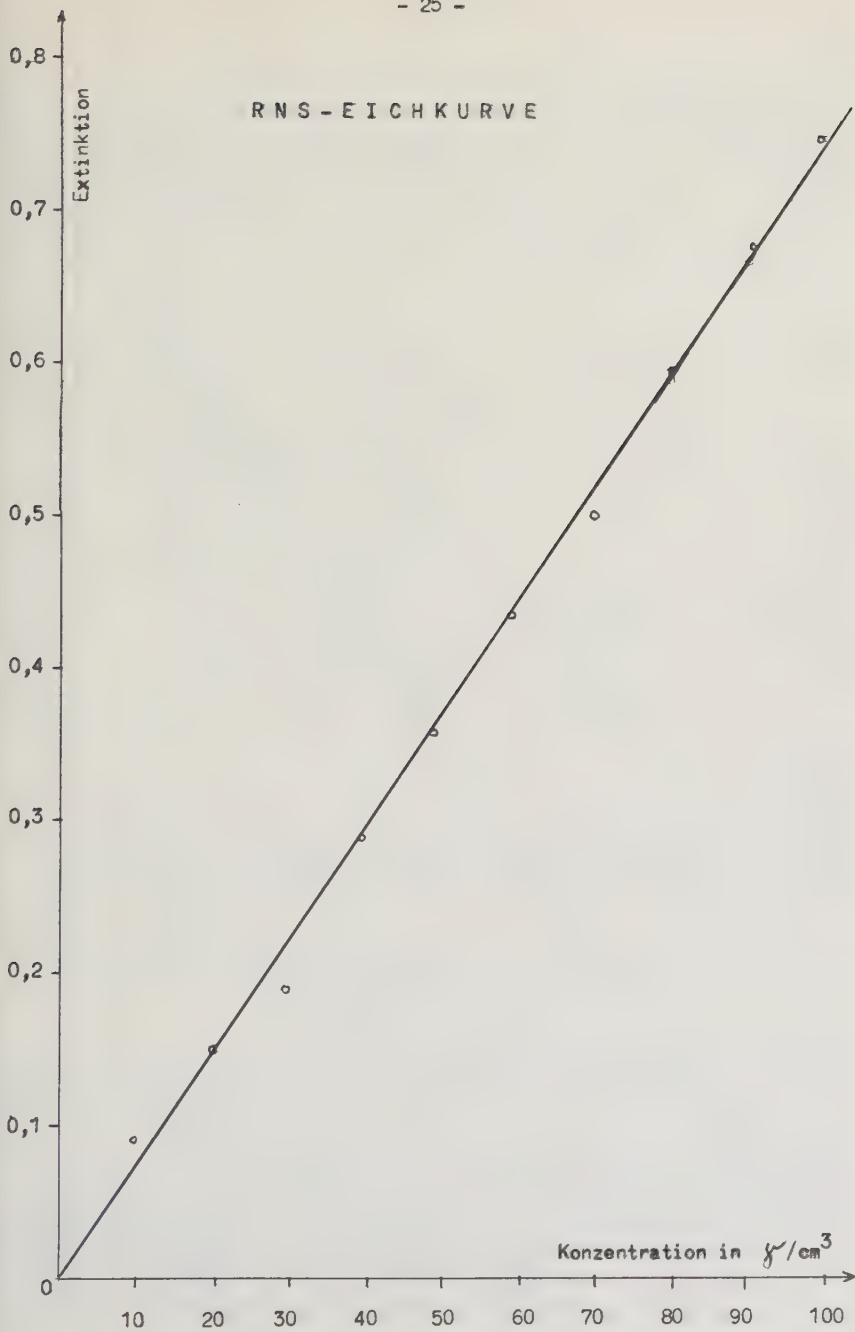
Konzentration

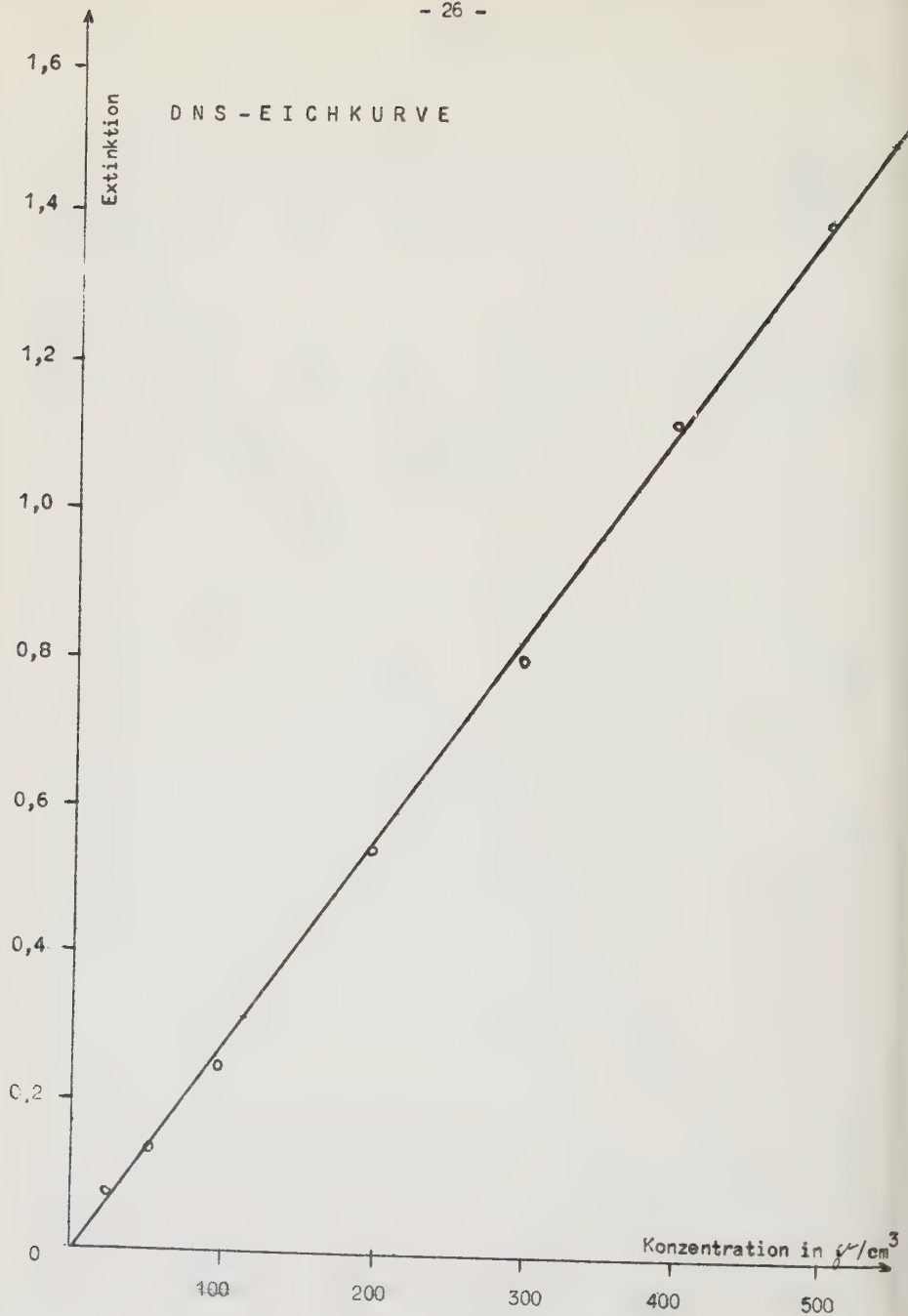
DNS:	25	50	100	200	300	400	500 μ /cm
Extinktion:	0,08	0,13	0,27	0,55	0,80	1,13	1,38

Konzentration

RNS:	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100 μ /cm
Extinktion:	0,09	0,15	0,19	0,29	0,36	0,43	0,50	0,59	0,67	0,74

(siehe beiliegende Eichkurven)





5. Beispiel zur Berechnung der Nukleinsäurewerte mit statistischer Auswertung.

Um aufzuzeigen, wie an Hand der gemessenen Extinktionen die Gehaltsberechnung der Nukleinsäurewerte pro Gramm Trockengewebe erfolgte, seien folgende Beispiele aufgeführt:

- 4,757 g : Gewicht des Objektträgers und Organhälfte, die zur Aufarbeitung dienen soll.
- 4,647 g : Gewicht des Objektträgers.
- 0,110 g : Frischgewicht der Organhälfte.
- 4,531 g : Gewicht des Objektträgers und Organhälfte, die zur Trockensubstanzbestimmung dienen soll.
- 4,424 g : Gewicht des Objektträgers.
- 0,107 g : Frischgewicht der Organhälfte.
- 4,447 g : Gewicht des Objektträgers und Organhälfte nach 12-stündigem Verbleib bei 60° C im Trockenschrank.
- 0,023 g : Gewicht der Trockensubstanz der Organhälfte.

Daraus ergibt sich nach der Gleichung $\frac{107}{23} = \frac{110}{x}$ ein Gewicht für die Trockensubstanz der Organhälfte, die der Nukleinsäurebestimmung diene, von $0,0236 \text{ g} = 23,6 \text{ mg}$.

6 ccm : Erhaltene Menge des Perchlorsäureextraktes.

a) Berechnung der DNS.

0,15 0,13 0,14 : Extinktionswerte am Eppendorf-Photometer.
0,14 : Arithmetischer Mittelwert.

Die Extinktion von 0,14 gibt in der DNS-Eichkurve 51 μ pro ccm Extrakt an. Da es sich aber bei diesem Versuch um 6 ccm Perchlorsäureextrakt handelt, ergibt das insgesamt (6×51) 306 μ DNS. Pro mg Trockensubstanz erhält man $(306 : 23,6)$ 13 μ DNS = 13 mg DNS pro g Trockensubstanz.

b) Berechnung der RNS.

Vorher wird der Extrakt mit 6%iger Perchlorsäure auf das 5-fache verdünnt.

0,16 0,19 0,19 : Extinktionswerte am Stufen-Photometer.

0,18 : Arithmetischer Mittelwert.

Die Extinktion von 0,18 gibt in der RNS-Eichkurve 25 γ pro ccm Extrakt an. Wegen der Verdünnung muß dieser Wert mit (6 x 5) 30 multipliziert werden: 30 x 25 = 750. Für die RNS berechnet sich daraus (750 x 23,6) ein Wert von 31,8 γ = 31,8 mg RNS pro g Trockensubstanz.

Die auf diese Weise erhaltenen Werte an DNS und RNS, ausgedrückt in mg/g Trockensubstanz der Versuchstiere wurden mit den entsprechenden Werten der Kontrolltiere verglichen und die Differenzen festgestellt. Darauf wurde der Durchschnittswert und die Streuung jeder Organreihe nach der Formel

$$M = \sqrt{\frac{\sum v^2}{n(n-1)}} \text{ --- berechnet.}$$

M gibt die durchschnittliche Abweichung des ermittelten Mittelwertes vom absoluten Mittelwert an, v = einzelne Abweichung, n = Anzahl der Einzelmessungen.

Diese Berechnung soll auch an einem Beispiel gezeigt werden:

DNS-Werte in mg/g Trockensubstanz einer Organreihe	Abweichung vom Mittelwert	Quadrat der Abweichung vom Mittelwert
9,8	+ 2,3	5,29
6,7	- 0,8	0,64
8,5	+ 1,0	1,00
8,6	+ 1,1	1,21
6,4	- 1,1	1,21
5,3	- 2,2	4,84
6,9	- 0,6	0,36
7,6	+ 0,1	0,01
4,9	- 2,6	6,76
5,8	- 1,7	2,89
8,1	+ 0,6	0,36
6,9	- 0,6	0,36
8,5	+ 1,0	1,00
7,0	- 0,5	0,25
<u>11,6</u>	<u>+ 4,1</u>	<u>16,81</u>

$$112,6 : 15 = 7,5$$

$$42,99 = \text{Summe}$$

$$\text{Mittelwert} = 7,5$$

$$M = \sqrt{\frac{42,99}{15(15-1)}} = \sqrt{\frac{42,99}{210}} = \sqrt{0,2047} = \sqrt{2047 \cdot 10^{-4}} =$$

$$10^{-2} \cdot \sqrt{2047} = 10^{-2} \pm 45,3 = \pm 0,45$$

So ergibt sich für dieses Organ ein Mittelwert von 7,5 mit einer Streuung von $\pm 0,45$.

Ferner erfolgte eine statistische Auswertung mittels des t-Testes, die ein Urteil über die Wahrscheinlichkeit der Differenzen zwischen den ermittelten Werten der Kontrolltiere und den Werten der Versuchstiere ermöglicht. Dazu war zunächst erforderlich, die Streuung der Differenz festzustellen, was mit Hilfe der Differenzmethode (direktes Verfahren) geschah. Sie gibt die Streuung bei gepaarten Einzelwerten an, wobei jeder Teil eines Paares unter

gleichen Versuchsbedingungen (ausgenommen den Versuchsfaktor) gestellt wurde. Diese Berechnung erfolgte nach der Formel

$$S_d = \sqrt{\frac{\sum d^2 - d \cdot \bar{d}}{n(n-1)}}$$

S_d = Streuung dieser Differenz.

d = einzelne Differenz.

$\sum d^2$ = Summe sämtlicher einzelner in das Quadrat erhobener Differenzen.

$\bar{d}$ = Mittelwert der einzelnen Differenzen.

n = Anzahl der Differenzen.

$\sum d$ = Summe der Differenzen.

Nach dieser Berechnung war es möglich, die Grenzwahrscheinlichkeit der Differenzstreuung zu ermitteln. Die Grenzwahrscheinlichkeit, d.h., daß von vielen erstellten Werten eine bestimmte Prozentzahl im Zufallsbereich liegen (z.B. 5,0%, 1%, 0,1%), wird allgemein als P-Wert bezeichnet, der unbedingt beachtet werden muß. Er dient dazu, festzustellen, in welchem Grade ein ermittelter Wert gesichert ist. Auf Grund der P-Werte werden folgende "Sicherungsklassen" aufgestellt:

P = kleiner 0,1 %	Differenz "sehr gut gesichert".
P = 0,1-1%	Differenz "gut gesichert".
P = 1-5%	Differenz "gesichert".

In dem sogenannten t-Test wird dieser Wert P den Ergebnissen gegenübergestellt. Der Wert t ist hierbei der Faktor, der angibt, um wieviel größer für eine bestimmte Grenzwahrscheinlichkeit (also P-Wert) die Differenz zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe sein muß als die errechnete Streuung der Differenzen (S_d). Der t-Wert errechnet sich nach der Formel

$$t = \frac{\bar{d}}{S_d}$$

$\bar{d}$ = Mittelwert der Differenzen.

S_d = errechnete Streuung der Differenzen.

Der errechnete t-Wert wird für die entsprechenden Freiheitsgrade (= $n-1$)

mit dem in der Tabelle befindlichen t-Wert verglichen und dabei festgestellt, für welchen P-Wert er in Frage kommt. Der Gang dieser Berechnung soll an folgendem Beispiel demonstriert werden:

DNS-Werte in mg/g Trockensubstanz
der Haut

Kontrolltiere	Versuchstiere	Differenz	Quadrat der Differenz
10,2	9,8	- 0,4	0,16
6,2	6,7	+ 0,5	0,25
5,0	8,5	+ 3,5	12,30
5,0	8,6	+ 3,6	13,00
7,2	6,4	- 0,8	0,64
4,6	5,3	+ 0,7	0,49
5,4	6,9	+ 1,5	2,25
5,4	7,6	+ 2,2	4,85
5,5	4,9	- 0,6	0,36
4,0	5,8	+ 1,8	3,24
5,5	8,1	+ 2,6	6,80
6,1	6,9	+ 0,8	0,64
5,9	8,5	+ 2,6	6,80
8,5	7,0	- 1,5	2,25
6,1	11,6	+ 5,5	30,00
			84,03

Summe d.pos. Differenzen 25,3

Summe d. neg. Differenzen - 3,3

22,0 : 15 = 1,47

$$Sd = \sqrt{\frac{\sum d^2 - d^- \sum d}{n(n-1)}} \quad d^2 = 84,03, \quad d^- = 1,47, \quad \sum d = 22,0, \quad N = 15$$

$$Sd = \sqrt{\frac{84 - 1,47 \cdot 22}{15(15-1)}} = \sqrt{\frac{84 - 32,3}{210}} = \sqrt{\frac{51,7}{210}} = \sqrt{0,246} = \pm 0,496$$

$$t = \frac{d^-}{Sd} \quad d^- = 1,47 \quad Sd = 0,496 \quad t = \frac{1,47}{0,496} = 2,96$$

Dieser Wert $t = 2,96$ zeigt in der Tabelle für 14 Freiheitsgrade ($= n-1$) einen P-Wert von 0,99% an. Somit ist die Zunahme der Versuchstiere gegenüber den Kontrolltieren mit $P = 0,99\%$ statistisch als gut gesichert anzusehen.

D. Ergebnisse.

Die Ergebnisse wurden den Organen nach tabellarisch zusammengefaßt.

Die erhaltenen Werte von DNS und RNS in mg/g Trockengewebe der Versuchstiere wurden denen der Kontrolltiere gegenübergestellt und ihre Differenz in mg/g Trockengewebe angegeben. Aus den Mittelwerten der jeweiligen Organreihe wurde die durchschnittliche Zunahme der Versuchsgruppe gegenüber der Kontrollgruppe in mg und Prozent ausgedrückt. Um ein Urteil über die statistische Sicherheit abgeben zu können, wurden die P-Werte angeführt. Aus Raummangel und der besseren Übersicht halber wurden in den Tabellen folgende Abkürzungen verwendet: K = Kontrolltier, V = Versuchstier, D = Differenzen, M = Mittelwert, St = Streuung des Mittelwertes.

T a b e l l e I
Haut

DNS			RNS		
K	V	D	K	V	D
10,2	9,8	-0,4	16,2	19,8	+ 3,6
6,2	6,7	+0,5	13,2	12,6	- 0,6
5,0	8,5	+3,5	19,1	16,2	- 2,9
5,0	8,6	+3,6	16,6	17,5	+ 0,9
7,2	6,4	-0,8	22,6	14,4	- 8,2
4,6	5,3	+0,7	14,7	18,0	+ 3,3
5,4	6,9	+1,5	15,0	16,5	+ 1,5
5,4	7,6	+2,2	13,5	19,1	+ 5,6
5,5	4,9	-0,6	16,8	16,9	+ 0,1
4,0	5,8	+1,8	13,8	18,9	+ 5,1
5,5	8,1	+2,6	15,0	23,1	+ 8,1
6,1	6,9	+0,8	19,4	17,9	- 1,5
5,9	8,5	+2,6	16,6	18,1	+ 1,5
8,5	7,0	-1,5	17,8	17,5	- 0,3
6,1	11,6	+5,5	13,4	15,4	+ 2,0

M = 6,0

M = 7,5

M = 16,5

M = 17,5

ST = $\pm$ 0,43

St = $\pm$ 0,45

St = $\pm$ 0,82

St = $\pm$ 0,68

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme von 1,5 mg = 25%

Die Zunahme ist statistisch mit P = 0,99 % gut gesichert.

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme von 1 mg = 6,1 %

Die Zunahme ist statistisch mit P = 84,1 % nicht gesichert.

T a b e l l e II
Hoden

DNS			RNS		
K	V	D	K	V	D
16,5	27,4	+ 10,9	32,3	72,6	+ 40,3
13,0	20,8	+ 7,8	30,5	26,9	- 3,6
10,9	20,7	+ 9,8	24,7	38,3	+ 13,6
14,7	13,6	- 1,1	39,5	34,7	- 4,8
17,9	19,8	+ 1,9	65,2	70,0	+ 4,8
18,7	20,4	+ 1,7	47,8	40,0	- 7,8
19,7	14,7	- 5,0	44,6	30,4	- 14,2
23,8	15,9	- 7,9	56,6	41,1	- 15,5
16,3	20,5	+ 4,2	48,7	42,1	- 6,6
14,8	15,3	+ 0,5	44,6	40,4	- 4,2
17,9	18,4	+ 0,5	47,8	75,6	+ 27,8
13,0	12,9	- 0,1	29,9	30,1	+ 0,2
17,8	22,8	+ 5,0	48,2	60,6	+ 12,4
13,2	26,7	+ 13,5	27,4	59,2	+ 31,8
21,1	21,5	+ 0,4	43,5	50,5	+ 7,0

M = 16,7 M = 19,4

St = + 0,88 St = + 1,29

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme von 2,7 mg = 16,2%.

Die Zunahme ist statistisch mit P = 5,4% schwach gesichert.

M = 42,1 M = 47,5

St = + 2,93 St = + 4,19

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme von 5,4 mg = 12,8%.

Die Zunahme ist statistisch mit P = 15,4% nicht gesichert.

T a b e l l e III
Darm

DNS			RNS		
K	V	D	K	V	D
19,1	17,9	- 1,2	51,2	41,0	- 10,2
16,2	17,9	+ 1,7	38,3	46,1	+ 7,8
18,1	19,5	+ 1,4	40,4	44,7	+ 4,3
17,2	22,9	+ 5,7	44,4	47,0	+ 2,6
16,1	17,1	+ 1,0	45,4	45,3	- 0,1
15,0	20,6	+ 5,6	51,2	49,1	- 2,1
16,2	19,3	+ 3,1	42,3	41,9	- 0,4
12,5	15,6	+ 3,1	45,4	39,1	- 6,3
13,3	14,1	+ 0,8	52,4	55,2	+ 2,8
17,5	18,7	+ 1,2	38,8	47,3	+ 8,5
13,0	16,3	+ 3,3	44,4	44,3	- 0,1
14,8	15,6	+ 0,8	45,1	44,5	- 0,6
18,0	17,1	- 0,9	46,5	43,8	- 2,7
19,0	17,1	- 1,9	39,0	42,5	+ 3,5
15,8	17,6	+ 1,8	41,5	48,4	+ 6,9
M = 16,1 M = 17,8			M = 44,4 M = 45,3		
St = $\pm$ 0,63 St = $\pm$ 0,56			St = $\pm$ 1,26 St = $\pm$ 1,0		

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme von 1,7 mg = 10,6%.

Die Zunahme ist statistisch mit P = 3,2% gesichert.

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme von 0,9 mg = 2,1%.

Die Zunahme ist mit P = 18,2 % statistisch nicht gesichert.

T a b e l l e I V
Milz

DNS			RNS		
K	V	D	K	V	D
34,3	32,3	- 2,0	38,0	43,8	+ 5,8
29,1	33,1	+ 4,0	33,9	43,4	+ 9,5
31,9	34,9	+ 3,0	39,3	54,4	+ 15,1
31,2	35,0	+ 3,8	44,2	44,4	+ 0,2
28,9	31,3	+ 2,4	51,7	37,3	- 14,4
32,5	26,0	- 6,5	33,8	35,0	+ 1,2
18,7	27,8	+ 9,1	42,6	42,8	+ 0,2
31,9	28,3	- 3,6	39,3	43,9	+ 4,6
32,8	36,9	+ 4,1	45,6	51,5	+ 5,9
25,3	30,9	+ 5,6	39,4	43,0	+ 3,6
31,7	28,2	- 3,5	48,0	49,7	+ 1,7
34,8	35,3	+ 0,5	48,5	46,1	- 2,4
33,0	40,9	+ 7,9	47,5	51,9	+ 4,4
40,8	31,4	- 9,4	47,1	45,5	- 1,6
31,2	22,4	- 8,8	40,5	40,0	- 0,5
M = 31,2 M = 31,6			M = 42,6 M = 44,8		
St = + 1,34 St = + 1,21			St = + 1,51 St = + 1,29		

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme von 0,4 mg = 1,3 %.

Die Zunahme ist statistisch mit $P = 84,1 \%$ nicht gesichert.

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme von 2,2 mg = 5,7 %.

Die Zunahme ist statistisch mit $P = 15,5 \%$ nicht gesichert.

T a b e l l e V
Nebenniere

DNS			RNS		
K	V	D	K	V	D
11,8	11,5	- 0,3	21,8	27,1	+ 5,3
11,8	10,5	- 1,3	19,9	21,4	+ 1,5
10,2	15,1	+ 4,9	23,0	23,5	+ 0,5
10,1	9,1	- 1,0	18,9	21,0	+ 2,1
10,5	10,8	+ 0,3	21,4	21,3	- 0,1
7,3	10,1	+ 2,8	19,2	19,3	+ 0,1
8,0	10,8	+ 2,8	15,8	18,9	+ 3,1
13,0	11,0	- 2,0	21,8	19,3	- 2,5
8,8	10,1	+ 1,3	22,0	20,8	- 1,2
10,2	11,4	+ 1,2	23,4	19,5	- 3,9
10,0	13,8	+ 3,8	23,3	29,2	+ 5,9
11,3	13,3	+ 2,0	21,9	25,9	+ 4,0
9,3	10,0	+ 0,7	19,8	24,8	+ 5,0
12,4	13,3	+ 0,9	17,2	22,4	+ 5,2
8,7	10,8	+ 2,1	15,2	27,5	+ 12,3
M = 10,2			M = 19,9		
St = + 0,49			M = 22,8		
M = 11,4			St = + 0,78		
St = + 0,46			St = + 0,87		

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme von 1,2 mg = 11,8 %.

Die Zunahme ist statistisch mit $P = 18,4 \%$ nicht gesichert.

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme von 2,9 mg = 14,6 %.

Die Zunahme ist statistisch mit $P = 3,9 \%$ gesichert.

T a b e l l e V I
Niere

DNS			RNS		
K	V	D	K	V	K
11,3	13,4	+ 2,1	26,2	24,3	- 1,9
12,4	10,4	- 2,0	22,0	32,4	+ 10,4
10,9	10,8	- 0,1	25,6	23,3	- 2,3
10,4	10,8	+ 0,4	24,3	24,8	+ 0,5
9,5	9,3	- 0,2	23,4	27,4	+ 4,0
11,3	11,9	+ 0,6	25,1	26,7	+ 1,6
8,4	9,7	+ 1,3	19,7	24,9	+ 5,2
10,2	12,6	+ 2,4	27,6	29,3	+ 1,7
9,8	11,2	+ 1,4	26,9	28,5	+ 1,6
7,8	9,4	+ 1,6	25,4	30,4	+ 5,0
9,1	10,3	+ 1,2	21,4	27,4	+ 6,0
10,9	13,9	+ 3,0	28,9	32,6	+ 3,7
11,8	13,4	+ 1,6	31,5	29,2	- 2,3
11,1	15,4	+ 4,3	23,7	32,3	+ 8,6
10,8	12,1	+ 1,3	25,0	27,7	+ 2,7

M = 10,4 M = 11,6
St = + 0,35 St = + 0,47

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme von 1,2 mg = 11,5 %.

Die Zunahme ist statistisch mit P = 0,64 % gut gesichert.

M = 25,1 M = 28,1
St = + 0,83 St = + 0,88

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme von 3 mg = 11,5 %.

Die Zunahme ist statistisch mit P = 1,8 % gesichert.

T a b e l l e VII
Leber

DNS			RNS		
K	V	D	K	V	D
6,5	7,9	+ 1,04	24,0	25,1	+ 1,1
5,3	5,3	o	22,9	29,6	+ 6,7
5,6	5,9	+ 0,3	25,0	30,3	+ 5,3
6,0	5,6	- 0,4	27,6	27,2	- 0,4
7,5	5,4	- 2,1	29,6	28,0	- 1,6
7,0	6,2	- 0,8	31,3	33,4	+ 2,1
5,8	5,1	- 0,7	36,5	32,4	- 4,1
5,5	5,6	+ 0,1	33,9	37,3	+ 3,4
4,5	6,4	+ 1,9	34,3	35,4	+ 1,1
4,7	5,7	+ 1,0	39,2	33,5	- 5,7
5,7	5,7	o	29,1	38,2	+ 9,1
5,5	5,6	+ 0,1	33,7	33,5	- 0,2
6,4	7,0	+ 0,6	32,6	38,5	+ 5,9
8,3	7,3	- 1,0	35,1	34,8	- 0,3
6,1	6,5	+ 0,4	33,9	33,3	- 0,6
M = 6,0 M = 6,1			M = 31,3 M = 32,7		
St = $\pm$ 0,28 St = $\pm$ 0,21			St = $\pm$ 1,32 St = $\pm$ 1,05		

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme von 0,1 mg.

Die Zunahme ist statistisch mit P = 76,8 % nicht gesichert.

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme von 1,4 mg = 4,5 %.

Die Zunahme ist statistisch mit P = 18,2 % nicht gesichert.

T a b e l l e VIII
Herz

DNS			RNS		
K	V	D	K	V	D
6,8	5,5	- 1,3	18,4	25,8	+ 7,4
6,4	7,5	+ 1,1	22,3	25,0	+ 2,7
8,0	11,0	+ 3,0	24,9	26,1	+ 1,2
8,1	7,5	- 0,6	36,5	40,1	+ 3,6
8,3	6,4	- 1,9	35,3	35,0	- 0,3
7,6	7,0	- 0,6	21,7	29,8	+ 8,3
6,8	7,5	+ 0,7	35,0	38,1	+ 3,1
7,6	8,5	+ 0,9	41,4	35,1	- 6,3
6,4	7,0	+ 0,6	33,7	39,6	+ 5,9
6,7	8,8	+ 2,1	36,0	44,6	+ 8,6
11,3	12,0	+ 0,7	34,3	34,4	+ 0,1
9,2	7,6	- 1,6	23,8	36,5	+ 12,7
8,7	10,0	+ 1,3	33,0	32,0	- 1,0
7,1	7,1	0	24,9	39,3	+ 14,4
8,0	11,1	+ 3,1	36,1	44,2	+ 8,1
M = 7,8			M = 30,5		
St = + 0,38			St = + 2,0		
M = 8,3			M = 35,0		
St = + 0,4			St = + 1,57		

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme von 0,5 mg = 6,4 %.

Die Zunahme ist statistisch mit P = 21,6 % nicht gesichert.

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme von 4,5 mg = 14,8 %.

Die Zunahme ist statistisch mit P = 1,5 % gesichert.

T a b e l l e IX
Lunge

DNS			RNS		
K	V	D	K	V	D
15,6	20,6	+ 5,0	25,5	25,0	- 0,5
15,5	16,0	+ 0,5	21,6	22,7	+ 1,1
14,8	16,0	+ 1,2	20,3	24,2	+ 3,9
14,4	16,1	+ 1,7	26,6	25,5	- 1,1
15,8	16,5	+ 0,7	26,2	31,1	+ 4,9
18,6	17,4	- 1,2	23,7	27,6	+ 3,9
19,2	19,9	+ 0,7	29,5	27,7	- 1,8
16,3	17,5	+ 1,2	31,4	27,8	- 3,6
15,7	17,4	+ 1,7	29,0	34,6	+ 5,6
14,5	14,9	+ 0,4	28,3	31,1	+ 2,8
15,1	17,1	+ 2,0	27,0	25,3	- 1,7
15,5	17,3	+ 1,8	29,4	30,4	+ 1,0
17,5	21,1	+ 3,6	22,7	30,3	+ 7,6
18,4	22,6	+ 4,2	27,1	24,7	- 2,4
19,0	20,5	+ 1,5	25,3	26,8	+ 1,5

M = 16,4 M = 18,1

St = + 0,45 St = + 0,59

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme von 1,7 mg = 10,4 %.

Die Zunahme ist statistisch mit $P = 0,72$ gut gesichert.

M = 26,2 M = 27,6

St = + 0,94 St = + 0,86

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme von 1,4 mg = 5,3 %.

Die Zunahme ist statistisch mit $P = 9,5 \%$ nicht gesichert.

T a b e l l e X
Gehirn

DNS			RNS		
K	V	D	K	V	D
5,5	7,8	+ 2,3	15,8	18,9	+ 3,1
4,2	5,1	+ 0,9	9,8	12,9	+ 3,1
4,9	6,2	+ 1,3	11,5	15,3	+ 3,8
5,0	7,6	+ 2,6	23,0	12,2	-10,8
5,9	5,0	- 0,9	15,7	16,7	+ 1,0
4,8	4,4	- 0,4	9,4	13,0	+ 3,6
4,7	7,1	+ 2,4	12,2	12,3	+ 0,1
4,1	4,6	+ 0,5	17,2	17,1	- 0,1
6,1	7,0	+ 0,9	12,4	15,0	+ 2,6
3,8	6,2	+ 2,4	14,2	12,2	- 2,0
4,1	4,3	+ 0,2	11,2	12,8	+ 1,6
4,5	4,8	+ 0,3	14,3	14,6	+ 0,3
5,4	6,2	+ 0,8	21,7	13,9	- 7,8
5,7	5,3	- 0,4	14,2	16,3	+ 2,1
5,8	5,0	- 0,8	10,8	12,4	+ 1,6
M = 5,0 M = 5,8			M = 14,2 M = 14,4		
St = + 0,21 St = + 0,38			St = + 1,11 St = + 0,6		

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme von 0,8 mg = 16 %.

Die Zunahme ist statistisch mit $P = 2,2 \%$ gesichert.

Die Versuchsgruppe zeigt gegenüber den Kontrollen eine durchschnittliche Zunahme von 0,2 mg.

Die Zunahme ist statistisch mit $P = 92 \%$ nicht gesichert.

Übersichtstabelle

	Mittelwerte der				Prozentuale Zunahmen der NS-Gehalte			
	Kontrolltiere		Versuchstiere		der Versuchstiere gegenüber den		Kontrolltieren	
	in mg/g Trockengewicht							
	DNS	RNS	DNS	RNS	DNS	Statist. gesichert	RNS	Statistisch gesichert
Haut	6,0	16,5	7,5	17,5	25,0	+	6,1	
Hoden	16,7	42,1	19,4	47,5	16,2		12,8	
Darm	16,1	44,4	17,8	45,3	10,6	+	2,1	
Milz	31,2	42,6	31,6	44,8	1,3		5,7	
Nebenniere	10,2	19,9	11,4	22,8	11,8		14,6	+
Niere	10,4	25,1	11,6	28,1	11,5	+	11,5	+
Leber	6,0	31,3	6,1	32,7	0		4,5	
Herz	7,8	30,5	8,3	35,0	6,4		14,8	+
Lunge	16,4	26,2	18,1	27,6	10,4	+	5,3	
Gehirn	5,0	14,2	5,8	14,4	16,0	+	0	

Zu Tabelle I.

Die Nukleinsäurewerte der Haut sind bei den einzelnen Versuchstieren durchwegs größer als die der Kontrolltiere.

Bei den vier Versuchstieren, deren DNS-Werte geringer sind, handelt es sich um relativ kleine Abweichungen. Die Mittelwerte von 6,0 und 7,5 lassen eine Streuung von $\pm 0,43$ bzw. $\pm 0,45$ zu. Die durchschnittliche Zunahme von 1,5 mg ist statistisch gut gesichert.

Bei den RNS-Werten wirken sich die 5 Abnahmen, die zum Teil bedeutend sind, auf das statistische Ergebnis ungünstiger aus. Die Mittelwerte von 16,5 und 17,5 ergeben durch die Streuungen von $\pm 0,82$ und $\pm 0,68$ keine echte Differenz mehr. Ferner ist die Zunahme durch den t-Test nicht statistisch gesichert.

Zu Tabelle II.

Auch bei den Hoden zeigen die Versuchstiere größtenteils höhere Werte. Aber durch die z.T. bedeutenden Gewichtsunterschiede zwischen den Hoden von Kontroll- und Versuchstieren, ist ein eindeutiger Vergleich nicht möglich. Während der Versuche hat sich nämlich herausgestellt, daß Hoden von geringem Gesamtgewicht hohe Nukleinsäurewerte pro g Trockensubstanz erkennen lassen, und umgekehrt Hoden von großem Gesamtgewicht niedrige Nukleinsäurewerte pro Gramm Trockensubstanz aufweisen. Dementsprechend mögen diese Ergebnisse auch bewertet werden, obgleich die DNS-Zunahmen vom mathematischen Standpunkt aus mit Wahrscheinlichkeit als gesichert angesehen werden müßten.

Zu Tabelle III.

Die Nukleinsäurewerte des Darmes sind bei den Versuchstieren höher als bei den Kontrolltieren, wenigstens was die Durchschnittswerte anbetrifft.

Die DNS-Gehalte zeigen bei den Versuchstieren bei nur 3 Abnahmen eine durchschnittliche Zunahme von 1,7 mg gegenüber den Kontrollen und sind mit einem P-Wert von 3,2 % gesichert.

Bei den RNS-Werten wird die durchschnittliche Zunahme von 0,9 mg sehr in Frage gestellt. Die 8 Abnahmen gegenüber den 7 Zunahmen und die enormen Streuungen der Mittelwerte gestatten es nicht, noch von einer Zunahme zu

sprechen.

Zu Tabelle IV.

Obgleich bei den meisten Versuchstieren die DNS- und RNS-Gehalte der Milz höher liegen als bei den Kontrolltieren, sind die Streuungen derart hoch, daß die Mittelwerte sich nur minimal voneinander unterscheiden.

Zu Tabelle V.

3/4 aller Nukleinsäurewerte der Nebennieren sind bei den Versuchstieren größer als bei den Kontrolltieren.

Die Mittelwerte der DNS sind mit einer Differenz von 1,2 mg und mit Streuungen von + 0,49 und von + 0,46 noch anzuerkennen. Jedoch wird die Zunahme durch den t-Test in Frage gestellt.

Bei der RNS ist die erhaltene Differenz gesichert.

Zu Tabelle VI.

Bei der Niere weisen fast sämtliche Ergebnisse höhere Gehalte an DNS und RNS bei den Versuchsratten auf. Die errechneten Durchschnittswerte werden durch ihre jeweiligen Streuungen nicht in Frage gestellt. Interessant ist die gleiche durchschnittliche prozentuale Zunahme an DNS und RNS. Die durchschnittliche Zunahme von 1,2 mg DNS ist statistisch gut gesichert, die RNS-Zunahme von 3,0 mg durch den P-Wert von 1,8 % gesichert.

Zu Tabelle VII.

Die Nukleinsäurezunahmen der Leber bei den Versuchstieren gegenüber den Kontrolltieren sind, sofern man überhaupt von Zunahmen sprechen kann, nicht signifikant.

Zu Tabelle VIII.

Im Herzen haben die Versuchstiere durchwegs höhere Nukleinsäuregehalte als

die Kontrolltiere.

Die durchschnittliche Zunahme der DNS-Gehalte um 0,5 mg ist aber bei den Streuungen von + 0,38 und von + 0,4 zu gering, um als gesichert angenommen zu werden, was durch den P-Wert von 21,6 % bestätigt wird.

Die RNS-Zunahmen der Versuchstiere sind trotz der beträchtlichen Streuungen der Mittelwerte von + 2,0 und von + 1,57 auf Grund der durchschnittlichen Differenz von 4,5 mg und des P-Wertes von 1,5 % gesichert.

Zu Tabelle IX.

Der Nukleinsäuregehalt der Lunge läßt auch höhere Werte bei den Tieren erkennen, denen Vitamin A injiziert wurde.

Den 14 Rattenpaaren, bei denen die Versuchstiere DNS-Zunahmen zeigen, steht nur 1 Paar gegenüber, dessen Kontrolltier einen höheren DNS-Gehalt pro g Trockensubstanz aufweist. Die durchschnittliche 10,4%ige Zunahme ist durch einen P-Wert von 0,72 % gut gesichert.

Die geringe Differenz für die RNS ist nicht gesichert.

Zu Tabelle X.

Bei den Gehirnanalysen ist eine eindeutige Zunahme bei den Versuchstieren gegenüber den Kontrolltieren nur bei der DNS festzustellen. Die Mittelwerte von 5,0 und 5,8 besitzen eine Streuung von + 0,21 und von + 0,38, was durch den P-Wert von 2,2 % gesichert wird.

Bei der RNS sind die 4 Abnahmen der Versuchstiere so groß, daß sie die 11 Zunahmen fast aufheben. So ist auch die nur sehr geringe durchschnittliche Zunahme gegenüber den Kontrollen zu erklären.

Zur Übersichtstabelle.

Obwohl man allgemein feststellen kann, daß die Nukleinsäuregehalte pro g Trockensubstanz durchwegs bei den Ratten, denen man Vitamin A injiziert hatte, größer sind als bei den Tieren, denen man nur die Emulsionslösung applizierte, dürfen nur diejenigen Ergebnisse mit großer Wahrscheinlich-

keit als positiv im Sinne der Versuchsanordnung akzeptiert werden, deren mathematische Auswertung es zuläßt. Und dieses trifft zu für die DNS der Haut, des Darmes, der Niere, der Lunge und des Gehirns; für die RNS der Nebenniere, der Niere und des Herzens.

E. Diskussion

Bevor die Ergebnisse diskutiert werden, sei erwähnt, daß es bei diesen Versuchen vor allem auf die Differenz der Nukleinsäuregehalte zwischen Kontroll- und Versuchstieren ankam, weniger auf die absoluten RNS- und DNS-Gehalte. Bei der Vielzahl der bisher veröffentlichten Methoden, die zur Bestimmung von Nukleinsäuren angewendet wurden und der Mannigfaltigkeit der Differenzen in den Ergebnissen, die dabei erzielt wurden, ist es bisher unmöglich, genau zu beurteilen, welches Verfahren das geeignetste ist. Die meisten in der Literatur angegebenen Werte sind auf den DNS-Phosphor bzw. RNS-Phosphor bezogen, weiterhin auf die DNS- und RNS- Gehalte pro Zelle. Da ferner Rasse, Ernährungszustand und Alter der Tiere den Nukleinsäuregehalt beeinflussen, wurde von einem eingehenden Vergleich der erhaltenen Ergebnisse mit denen anderer Autoren abgesehen. Daß aber die gewonnenen Werte doch im Rahmen der allgemein festgestellten Gehaltszahlen liegen, soll an einigen Beispielen gezeigt werden. So wurde von Schmidt und Thannhauser (60) durch eine eigene Methode für die Milz ein RNS/DNS-Verhältnis von 1,3 und für das Gehirn von 2,2 festgestellt. Nach eigenen Untersuchungen ergibt sich für die Durchschnittswerte der Milz der Kontrolltiere ein Verhältnis von $42,6 : 31,2 = 1,36$; für die Versuchstiere ein Verhältnis von $44,8 : 31,6 = 1,4$; beim Gehirn für die Kontrolltiere ein Verhältnis von $14,2 : 5,0 = 2,8$; für die Versuchstiere ein Verhältnis von $14,4 : 5,8 = 2,5$. Von Davidson und Wymouth (81) wurde durch eigene Methode für das Herz ein RNS/DNS-Verhältnis von 3,6 und für die Niere ein Verhältnis von 1,8 festgestellt. In vorstehenden Tabellen sind für das Herz ein RNS/DNS-Verhältnis von $30,5 : 7,8 = 3,9$ bei den Kontrolltieren und von $35,0 : 8,3 = 4,2$ bei den Versuchstieren angegeben. Für die Niere liegt es bei $25,1 : 10,4 = 2,4$ bei den Kontrolltieren und bei $28,1 : 11,6 = 2,4$ bei den Versuchstieren.

Zunächst muß geklärt werden, ob man auf Grund der durchgeführten Versuche und der dabei erhaltenen Ergebnisse von einem direkten Einfluß des Vitamins A auf den Nukleinsäurestoffwechsel sprechen darf. Die Bestimmung des Nukleinsäuregehaltes pro Gramm Organtrockengewicht ist wegen der möglichen Konzentrationsverschiebungen anderer Stoffwechselprodukte (Eiweiß, Kohlehydrate, Fett) nicht ganz eindeutig. Nimmt z.B. bei gleichbleibendem Nukleinsäuregehalt das Gewicht des Organs ab, so steigt der Nukleinsäuregehalt pro Gewichtseinheit und umgekehrt, wenn das Organgewicht größer wird, sinkt der Nukleinsäuregehalt pro Gewichtseinheit. Durch die Bestimmung des

Nukleinsäuregehaltes in Bezug auf Trockengewebe konnte zwar die Beeinflussung der Ergebnisse durch unterschiedliche Wasserspeicherung zwischen Kontroll- und Versuchstieren ausgeschlossen werden, jedoch nicht die möglichen Fälschungen durch die anderen Inhaltsstoffe.

Signifikante Differenzen der Trockengewichte der Gesamorgane zwischen Kontroll- und Versuchsgruppen waren aber nur bei den Nieren festzustellen. Es betrug das durchschnittliche Trockengewicht beider Nieren der Kontrollratten zusammen 194,0 mg und das der Versuchsratten 184,0 mg. Diese Differenz wird durch die Streuungen von $\pm 4,45$ mg und $\pm 3,44$ mg nicht in Frage gestellt. Das durchschnittliche geringere Gewicht pro Nierenpaar der Versuchsgruppe von 10 mg ergab sich aus 10 niedrigeren Werten der Nieren der Versuchsratten, wogegen 5 Nierenpaare der Versuchstiere geringe höhere Gewichte als die Nieren der Kontrolltiere aufwiesen. Daraus ergibt sich nun die Frage, ob diese Gewichts-differenzen auf verschiedene Ausbildung, Entwicklung und Beanspruchung der Organe basieren oder, ob das zugeführte Vitamin A eine Abnahme des Nierengewichtes bewirkt. Normalerweise wird ein Gehalt von etwa 35 - 40 i.E. Vitamin A pro 100 ccm Blutplasma bei der Ratte gefunden (133). Ratten, die täglich mehr als 100.000 i.E. Vitamin A erhalten, erkranken an Erschöpfung, Appetitlosigkeit, Wachstumsstillstand und Gewichtsverlust (115). Ob aber nun die kurze Zeitspanne von 3 Stunden und die 3.000 i.E. Vitamin A ausreichen, die den Ratten injiziert wurden, um eine feststellbare Gewichtsabnahme zu bewirken, ist sehr fraglich. Da aber keine derartigen Ergebnisse vorliegen, kann diese Frage nicht beantwortet werden.

Daß Unterschiede der Organgewichte für verschiedene Nukleinsäuregehalte verantwortlich gemacht werden können, soll an einem Beispiel gezeigt werden: Bei einem Rattenpaar, wovon das Kontrolltier Hoden mit einem Trockengewicht von 189,2 mg aufwies und das Versuchstier solche von 48,5 mg, ergaben sich für das Kontrolltier ein DNS-Wert pro Gramm Trockengewebe von 13,2 mg und ein RNS-Wert von 27,4 mg; bei dem Versuchstier betrugen die entsprechenden Werte für DNS 26,7 und für RNS 59,2 mg. Vielleicht kann man das dadurch erklären, daß die schwereren Hoden prozentual mehr Stützgewebe und weniger Parenchym besitzen als die kleineren Hoden. Aber beweisen kann man das natürlich nicht, dazu hätte man jeden Hoden einer histologischen Untersuchung unterziehen müssen. Andererseits soll aber auch gezeigt werden, daß diese Abhängigkeit nicht immer vorhanden sein muß. Eine Kontrollratte, deren Hodengewicht 105,2 mg ausmachte, wies einen DNS-Wert

von 14,8 mg pro Gramm Trockengewebe und einen RNS-Wert von 44,6 mg pro Gramm Trockengewebe auf. Die Hoden der entsprechenden Versuchsratte wogen 64,9 mg, der DNS-Gehalt betrug 15,3 mg, also nur wenig mehr als der des Kontrolltieres, und der RNS-Gehalt war mit 40,4 mg pro Gramm Trockengewebe sogar noch niedriger als beim Kontrolltier, obwohl der Gewichtsunterschied der Hoden von 40,3 mg recht beträchtlich war.

Durch Vitamin A hervorgerufene Gewichtsveränderungen der Gesamtorgane zwischen Kontroll- und Versuchsgruppen konnten mit Ausnahme der Nieren also nicht festgestellt werden.

Zusammenfassend kann man folgern, daß das Vitamin A in bestimmten Organen eine Zunahme des Nukleinsäuregehaltes bewirkt. Im folgenden Abschnitt soll versucht werden, diese Vitamin A-Wirkung zu deuten.

Da die DNS und die RNS sich stoffwechselfähig verschieden verhalten, empfiehlt es sich auch, ihre durch Vitamin A bedingten Zunahmen getrennt zu betrachten.

Eine DNS-Zunahme kann erstens durch Neubildung von Zellen und zweitens durch eine Zunahme des DNS-Gehaltes pro Zelle zustandekommen. Immer jedoch muß eine DNS-Zunahme, sofern sie keine relative ist, die durch Abnahme anderer Substanzen entsteht, zu der Zellteilung in Beziehung stehen. Thomas und Frazer (65) wiesen nämlich nach, daß der DNS-Gehalt des Zellkerns pro Chromosomensatz in sich nicht teilenden Rattengeweben konstant ist.

Für eine erhöhte mitotische Rate, die das Vitamin A bewirkt, sprechen die Versuche von Lasnitzki (121). Dabei zeigte sich, daß eine vermehrte Zellteilung in dem Vitamin A-reichen Medium gegenüber den Zellen im Kontrollmedium erst vom 5. Tag ab auftrat. Zu berücksichtigen ist aber, daß es sich um Versuche in vitro handelte, die Verhältnisse im lebenden Tier jedoch ganz anders sein können. Ob die Vitamin A-Wirkung auf Rattengewebe die gleiche ist wie auf Kükenherzenfibroblasten, ist noch nicht erwiesen.

Weiterhin konnten Frey und Schock (118) bei Patienten mit Psoriasis, denen sie mehrere Monate lang täglich 400.000 i.E. synthetisches Vitamin A-Azetat (Arovit "Roche") verabreichten, histologisch Vermehrung der Mitosen in den Reteleisten feststellen.

Lehnartz (4) nimmt auch an, daß Vitamin A bei der Zellvermehrung

eine Rolle spielt, da man nach reichlichen Vitamin A-Gaben einen vermehrten Gehalt von Purinen im Gewebe findet, die als Baumaterial für Zellkerne angesehen werden.

Von S w i f t (100) wurde festgestellt, daß der DNS-Gehalt in Zellen kurz vor ihrer Teilung höher ist als in ruhenden.

Eine andere Erklärung fanden T h o m s o n und Mitarbeiter (85) für die durchschnittliche Zunahme des DNS-Gehaltes pro Zellkern. Sie führten die DNS-Zunahme pro Zellkern bei noch wachsenden Tieren, der durch Proteinmangel erzielt wurde, darauf zurück, daß die DNS-Synthese durch den Proteinmangel kaum beeinflußt wurde, aber die Mitose ausblieb.

Auf Grund der angeführten Versuche von L a s n i t z k i (121) dürfte es unwahrscheinlich sein, dem Vitamin A in den eigenen Versuchen eine derartige Wirkung zuzuschreiben.

S t u r m (50) ist allgemein der Ansicht, daß die Vermehrung der Nukleoproteide nicht so sehr auf eine Beschleunigung der synthetischen Vorgänge, als vielmehr auf eine Verlangsamung der Abbauvorgänge zurückzuführen ist. Da nachgewiesen werden konnte, daß nach Applikation höherer Vitamin A-Dosen die Ausscheidung des Allantoins, das als Endprodukt des Nukleinsäurestoffwechsels auftritt, erheblich vermindert wird (146), ist aller Wahrscheinlichkeit nach anzunehmen, daß die Wirkung des Vitamins A vornehmlich in einer Hemmung der Abbauphasen der Nukleinsäurestoffwechselprodukte zu suchen ist.

Für die RNS-Zunahme, die nur bei drei Organen als gesichert gelten darf, kann man grundsätzlich die gleichen Begründungen anführen wie bei der DNS-Zunahme. Dabei ist jedoch zu bedenken, daß jede Deutung der Versuchsergebnisse, bei denen die RNS mittels eines chemischen Verfahrens insgesamt bestimmt wurde, nicht ganz eindeutig sein kann, da die RNS-Bestandteile der Zelle sowohl in der räumlichen Verteilung als auch hinsichtlich ihrer Stoffwechselaktivität Unterschiede aufweisen. So findet man die RNS im Cytoplasma, in den Mikrosomen, in den Mitochondrien, in den Nucleolen (9) und in geringer Menge auch in den Chromosomen (10). Die RNS in den Nucleolen besitzt eine beträchtlich höhere Umsatzgeschwindigkeit als die RNS der übrigen Zellbestandteile (35). Ferner soll auch ein Unterschied im chemischen Bau zwischen Kern-RNS und extranuklearer RNS bestehen.

Sicher bewiesen ist jedoch, daß eine RNS-Zunahme immer mit den Vorgängen der Zellteilung oder der erhöhten Proteinsynthese verbunden ist (53). Eine der-

artige Zunahme kann jedoch auch durch Katalysatoren ausgelöst werden, wie z.B. L e s l i e und D a v i d s o n (78) zeigen konnten. Sie stellten in mit Insulin behandelten Kulturen des explantierten Kückenherzens einen höheren RNS-Gehalt pro Zelle gegenüber den Kontrollkulturen fest.

Wenn der RNS-Stoffwechsel somit durch ein Hormon zu beeinflussen ist, so erhebt sich die Frage, ob dem Vitamin A als Wirkstoff eine ähnliche Funktion direkt im Nukleinsäurestoffwechsel zukommt oder ob es indirekt über das Insulin oder einen anderen Faktor die RNS-Zunahme auslöst.

Faßt man die in den eigenen Versuchen erstellten Ergebnisse zusammen, so kann man erkennen, daß die gesicherten Zunahmen an DNS für die Organe Haut, Darm, Niere, Lunge und Gehirn beobachtet wurden. RNS-Zunahmen konnten mit Sicherheit nachgewiesen werden in den Organen Nebenniere, Niere und Herz. Würde man annehmen, daß das Vitamin A über zentrale hormonelle Stoffwechselsysteme die Nukleinsäurezunahmen auslöst, so sollte man annehmen, daß alle Organe gleichermaßen betroffen werden. Da in den eigenen Versuchen jedoch nur ganz bestimmte Organe dieser Vitamin A-Wirkung zugänglich sind, liegt die Wahrscheinlichkeit nahe, daß das Vitamin A einen direkten Einfluß in der Zelle des entsprechenden Organs entfaltet. Dafür spricht auch, daß die gesicherten Nukleinsäurezunahmen hauptsächlich in den gutdurchbluteten Organen wie Lunge und Niere festzustellen sind. Eine eventuelle Deutung der Organspezifität der festgestellten Vitamin A-Wirkung könnte darin liegen, daß das Vitamin A selektiv von den in Frage kommenden Organen aufgenommen würde und zur Wirkung gelangte. Weitere Diskussionen hierüber wären rein spekulativer Natur und sollen daher unterlassen werden.

Zusammenfassend läßt sich auf Grund der Versuchsergebnisse feststellen, daß das Vitamin A mit großer Wahrscheinlichkeit einen unmittelbaren Einfluß auf den Nukleinsäurestoffwechsel einzelner Organe im Sinne einer Zunahme besitzt.

F. Zusammenfassung

Der biochemische Angriffspunkt des Vitamins A im allgemeinen Stoffwechselgeschehen ist mit Ausnahme seiner Bedeutung beim Sehvorgang noch unbekannt. Versuchsergebnisse des hiesigen Institutes ließen eine Wirkung des Vitamins A auf den Nukleinsäurestoffwechsel verschiedener Organe der Ratte vermuten. Ungeklärt ist hierbei die Frage geblieben, ob diese Vitamin A-Wirkung auf Grund eines direkten Eingreifens in den Nukleinsäurestoffwechsel oder über eine zentrale hormonelle Steuerung zustandekommt.

Durch die eigenen Versuche sollte annähernd geklärt werden, ob dem Vitamin A eine örtliche Wirkung im Nukleinsäurestoffwechsel zukommt. Im Paarversuch wurden etwa 100 g schweren, männlichen Tieren über eine intravenöse Dauerinfusion innerhalb von 3 Stunden 3.000 i.E. Vitamin A, im Gegensatz zu Kontrolltieren, die in einer 3-stündigen Dauerinfusion das entsprechende Emulsionsmittel erhielten, in Urethannarkose verabreicht. Unmittelbar danach wurden die Tiere paarweise getötet, entblutet, die Organe nach bestimmtem Schema entnommen und der chemischen Aufarbeitung zur Bestimmung von RNS und DNS unterworfen. Bestimmt wurden die Nukleinsäuregehalte getrennt nach DNS und RNS. Die Gehalte wurden in mg pro g Trockengewebe angegeben.

Statistisch gesicherte Zunahmen an Desoxyribonukleinsäure wurden in den Organen Haut, Darm, Niere, Lunge und Gehirn festgestellt. Statistisch gesicherte RNS-Zunahmen konnten in den Organen Nebenniere, Niere und Herz nachgewiesen werden.

Die Versuchsergebnisse werden diskutiert und es wird festgestellt, daß das Vitamin A mit großer Wahrscheinlichkeit einen unmittelbaren Einfluß auf den Nukleinsäurestoffwechsel in den Zellen oben genannter Organe ausübt.

G. Literaturangabe

1. Bergold, G., Pister, L. : Naturforsch. 3b, 406 (1948)
2. Mejbaum, W. : Hoppe-Seyler's Z.phys.Ch.258, 117(1939)
3. Heilmeyer, L. : Lehrbuch der speziellen pathologischen Physiologie, G.Fischer-Verlag, Stuttgart 1955, S. 379-382
4. Lehnartz, E. : Einführung in die chem. Physiologie, Springer-Verlag, 1952, S. 183
5. Signer, R.
Caspersson, T.
Hammarsten, E. : Nature 141, 122 (1938)
6. Flaschenträger, B. : Physiolog. Chemie, d.Stoffwechsel, Springer-Verlag 1954, S. 1105
7. : 2. Colloquium d. Deutschen Gesellsch. für physiol.Chemie am 6. und 7.April 1951 in Mosbach, Baden: Mikroskopische und chemische Organisation der Zelle.
8. Caspersson, T. : Naturw. 29, 363 (1941)
Thorell, B.
9. Reichard, P. : Acta chem. scan. 4, 861 (1950)
10. Mirsky, A.E. : Cold Spring Harbor Symposia Quant.Biol. 12, 143 (1947)
11. Litt, M. : Cancer Research 12, Sci. Proc. 279 (1952)
Monty, K.J.
Dounce, A.L.
12. Mc Indoe, W.M. : Brit. J. Cancer 6, 200 (1952)
Davidson, J.N.
13. Crosbie, G.W. : Biochem. J. 54, 286 (1953)
Smellie, R.M.S.
Davidson, J.N.
14. Caspersson, T. : Chromosoma, Berlin 2, 132 (1941)
Thorell, B.
15. Caspersson, T. : Chromosoma, Berlin 2, 111 (1941)
Landström-Hyden,
Aquilonius, L.
16. Crosbie, G.W. : Biochem. J. 54, 287 (1953)
Smellie, R.M.S.
Davidson, J.N.

17. Flaschenträger, B. : *Physiol. Chemie, der Stoffwechsel*,
Lehnartz, E. Springer-Verlag 1954, S. 1190
18. Hammarsten, E. : *Acta physiol. scand.* 11, 335 (1946)
Hevesy, G.
19. Andreasen, E. : *Acta physiol. scand.* 10, 258 (1945)
Ottesen, J.
20. Lang, K. : *Biochem. Z.* 324, 217 (1953)
Lang, H.
Siebert, G.
Lucius, S.
21. Hogeboom, G.H. : *J. biol. Ch.* 197, 611 (1952)
Schneider, W.C.
22. Siebert, G. : *Biochem. Z.* 324, 311 (1953)
Lang, K.
Lucius, S.
Rossmüller, G.
23. Davidson, J.N. : *Biochem. J.* 42, 14 (1948)
Raymond, W.
24. Brown, G.B. : *J. biol. Ch.* 174, 1043 (1948)
Petermann, M.L.
Furst, S.S.
25. Eliasson, N.A. : *Acta chem. scand.* 5, 431 (1951)
Hammarsten, E.
Reichard, P.
Aqvist, S.
Thorell, B.
Ehrensward, G.
26. Flaschenträger, B. : *Physiol. Chemie, der Stoffwechsel*,
Lehnartz, E. Springer-Verlag 1954, S. 1191
27. Brachet, J. : *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*
12, 18 (1947)
28. Roll, P.M. : *J. biol. Ch.* 180, 333 (1949)
Brown, G.B.
Di Carlo, F.J.
Schultz, A.S.
29. Hammarsten, E. : *Acta chem. scand.* 3, 432 (1949)
Reichard, P.
Saluste, E.

30. Flaschenträger, B. : Physiol. Chem., der Stoffwechsel,
Lehnartz, E. Springer-Verlag 1954, S. 1193
31. Macnutt, W.S. : Biochem. J. 50, 384 (1952)
32. Cohen, S.S. : J. biol. Ch. 177, 667 (1949)
33. Flaschenträger, B. : Physiol. Chemie, der Stoffwechsel,
Lehnartz, E. Springer-Verlag 1954, S. 1119
34. Mc Indoe, W.M. : Brit. J. Cancer, 6, 201 (1952)
Davidson, J.N.
35. Smellie, R.M.S. : Biochem. J. 54, 280 (1953)
Mc Indoe, W.M.
Logan, R.
Davidson, J.N.
Dawson, I.M.
36. Brachet, J. : Experientia 6, 294 (1950)
37. Caspersson, T. : "Cell Growth and Cell Function"
W.W. Norton and Co., New York, 1950
38. Daoust, R. : J. Biol. Chem. 207, 405 (1954)
Bertalanffy, F.D.
Leblond, C.B.
39. Barnum, C.P. : Cancer-Research 13, 880 (1953)
Huseby, R.A.
Vermund, H.
40. Chargaff, E. : The Nucleic Acids, Academic Press
Davidson, J.N. Inc., Publishers New York 1955, S. 431
41. Chargaff, E. : The Nucleic Acids, Academic Press
Davidson, J.N. Inc., Publishers New York 1955, S. 342
42. Flaschenträger, B. : Physiol. Chemie, der Stoffwechsel,
Lehnartz, E. Springer-Verlag 1954, S. 1185
43. Flaschenträger, B. : Physiol. Chemie, der Stoffwechsel,
Lehnartz, E. Springer-Verlag 1954, S. 1186
44. Siebert, G. : B.Z. 320, 418 (1949/50)
Lang, K.
Corbet, A.
45. Lea, D. : Parasitology 36, 110 (1944)
Smith, K.M.
Holmes, B.
Markham, R.

46. Massart, L. : *Experientia* 3, 494 (1947)
Peeters, G.
van Houcke, A.
47. Krampitz, L.O. : *Arch. Biochem.* 12, 57 (1947)
Werkman, C.H.
48. De Nicola, M. : *Exper.* 6, 432 (1950)
49. Munro, H.N. : *Biochem. J.* 54, 198 (1953)
Naismith, D.J.
Wikramanayake, T.W.
50. Heilmeyer, L. : *Lehrbuch der spez. Physiologie*,
G. Fischer-Verlag, Stuttgart 1955,
S. 441
51. Robeson, C.D. : *J. Amer. Chem. Soc.* 77, 4111 (1955)
Cawley, J.D.
Weisler, L.
Stern, M.H.
Eddinger, C.C.
Chechak, A.J.
52. ... : 2. Colloquium d. Deutschen Gesell-
schaft für physiol. Chemie am
6. und 7. April 1951 in Mosbach,
Baden: Mikroskopische und chemische
Organisation der Zelle, S. 61-63
53. Reddy, D.V.N. : *J. Biol. Chem.* 198, 267 (1952)
Lombardo, M.E.
Cerecedo, L.R.
54. Flexner, J.B. : *J. Cellular Comp. Physiol.* 38,
1 (1951)
Flexner, L.B.
55. Davidson, J.N. : *Biochem. J.* 46, Proc. 40 (1950)
Leslie, J.
Smellie, R.M.S.
Thomson, R.Y.
56. Bendich, A. : *Exptl. Cell Research*
Suppl. 2, 181 (1952)
57. Chargaff, E. : *The Nucleic Acids*
Academic Press Inc.,
Publishers New York 1955, S. 394
Davidson, J.N.

58. Bergstrand, A. : Cold Spring Harbor Symposia
Eliasson, N.A. Quant. Biol. 13, 22 (1948)
Hammarsten, E.
Norberg, B.
Reichard, P.
59. Marshak, P. : J. Cellular Comp. Physiol. 34,
Calvet, F. 541 (1949)
60. Schmidt, G. : J. Biol. Chem. 161, 83 (1945)
Thannhauser, S.J.
61. Anderson, E.P. : J. Biol. Chem. 202, 513 (1953)
Aqvist, S.E.G.
62. Chargaff, E. : The Nucleic Acids, Academic Press
Davidson, J.N. Inc., Publishers New York 1955,
S. 410
63. Davidson, J.N. : Nature 165, 49 (1950)
Leslie, I.
64. Davidson, J.N. : Cancer Research 10, 587 (1951)
Leslie, I.
65. Thomson, R.Y. : Exptl. Cell. Research 6, 367 (1954)
Frazer, S.C.
66. Leuchtenberger, C. : Am. J. Pathol. 30, 65 (1954)
Leuchtenberger, R.
Davis, A.M.
67. Leuchtenberger, C. : Excerpta Med. Sect. I 8, 418 (1954)
Weir, D.R.
Schrader, F.
Leuchtenberger, R.
68. Borell, M. : Acta Endocrinol. 9, 141 (1952)
69. Chargaff, M. : The Nucleic Acids,
Davidson, J.N. Academic Press Inc.,
Publishers New York 1955, S. 375
70. Lowe, C.M. : Arch. Biochem. and Biophys. 38,
335 (1952)
71. Muntwyler, E. : J. Biol. Ch. 184, 181 (1950)
Seifter, S.
Harkness, D.M.
72. Drysdale, G.R. : J. Biol. Chem. 193, 533 (1951)
Plant, G.W.E.
Lardy, H.A.

73. Rose, I.A. : Proc.Soc. Exptl. Biol.Med. 79, 541
Schweigert, B.S. (1952)
74. Young, J.M. : J. Biol. Chem. 193, 743 (1951)
Dinning, J.S.
75. Goldstein, B.I. : Biokhimiya 17, 354 (1952)
Kondrateva, L.G.
Gerasimova, V.V.
76. Jeener, R. : Biochim. et Biophys. Acta 2, 439 (1948)
77. Telfer, M.A. : Arch. Biochem. and Biophys. 44, 111
(1953)
78. Leslie, I. : Biochem. J. 49, 41 (1951)
Davidson, J.N.
79. Callan, H.G. : Nature 161, 440 (1948)
80. Davidson, J.N. : Biochem. J. 36, 39 (1944)
Waymouth, C.
81. Davidson, J.N. : Biochem. J. 38, 39 (1944)
Waymouth, C.
82. Peters, V.B. : Am. J. Anat. 86, 133 (1950)
Flexner, L.B.
83. Mandel, P. : Compt. rend. 230, 786 (1950)
Mandel, L.
Jacob, M.
84. Kurnick, N.B. : Abstr. Ind. congr. intern.biochim.,
Paris 1952 p. 363
85. Thomson, R.Y. : Biochem. J. 53, 460 (1953)
Heagy, F.C.
Hutchison, W.C.
Davidson, J.N.
86. Fukuda, M. : Experientia 9, 28 (1953)
Sibatani, A.
87. Gros, F. : Compt. rend. 233, 990 (1951)
Bonfils, S.
Machebeauf, M.
88. Roberts, K.B. : Quart. J. Exptl. Physiol. 37, 239
Florey, H.W. (1952)
Joklik, W.K.
89. Mandel, P. : Compt. rend. 232, 1513 (1951)
Mandel, L.
Jacob, M.

90. Mandel, L. : *Experientia* 8, 426 (1952)
Jacob, M.
Mandel, P.
91. Campbell, R.M. : *J. Endocrinol.* 9, 45 (1953)
Kosterlitz, H.W.
92. Campbell, R.M. : *J. Endocrinol.* 9, 52 (1953)
Innes, I.R.
Kosterlitz, H.W.
93. Alfert, M. : *Proc. Natl. Acad. Sci.* 37, 202 (1951)
Bern, H.A.
94. Campbell, R.M. : *J. Endocrinol.* 6, 308 (1950)
Kosterlitz, H.W.
95. Menten, M.L. : *Arch. Pathol.* 54, 343 (1952)
Willms, M.
96. Menten, M.L. : *Arch. Pathol.* 54, 351 (1952)
Willms, M.
97. Lutwak-Mann, C. : *Biochem. J.* 52, 356 (1952)
98. Thomson, J.F. : *Arch. Biochem. and Biophys.* 42, 185 (1953)
Tourtelotte, W.W.
Carthar, M.S.
Storer, J.B.
99. Lecomte, C. : *Compt. rend.* 234, 1400 (1952)
de Smul, A.
100. Swift, H.H. : *Physiol. Zool.* 23, 169 (1950)
101. Patan, K. : *Records Genet. Soc. Amer.* 22, 90 (1953)
102. With, T.K. : *Vitamine und Hormone* 2, 369 (1942)
103. Clausen, S.W. : *J. Nutrit.* 24, 1 (1942)
Baum, W.S.
Mc. Coord, A.B.
Rydeen, J.O.
Breese, B.B.
104. Gray, E.B. : *J. Nutrit.* 19, 39 (1940)
Le Hickman, K.C.O.
Brown, E.F.
105. Hoch, H. : *Brit.J.Exper.Path.* 27, 316 (1949)
Hoch, B.
106. With, T.K. : *Vitamine und Hormone* 1, 417
(1941)

107. Morton, R.A. : Biochemic. J. 41, 97 (1947)
Glover, J.
Goodwin, T.W.
108. Stepp, W. : Die Vitamine und ihre klinische Anwendung,
Kühnau, J. Enke-Verlag, Stuttgart 1944
Schröder, H.
109. Prelog, V. : Helvet. chim. Acta 31, 1799 (1948)
Führer, J.
Hagenbach, R.
Schneider, R.
110. Rebel, H.H. : Dsch. med. Wschr. 1946, 64
111. Larsen, N.P. : J. Amer. Med. Assoc. 137, 832 (1948)
112. Johnson, R.L. : J. Biol. Chem. 171, 513 (1947)
Baumann, C.A.
113. Abelin, I. : Z. physiol. Chem. 217, 109 (1933)
114. Wendt, H. : Dtsch. med. Wschr. 1936, 1213
115. v. Drigalski, W. : Kl. Wschr. 1933, 308
116. Finucci, V. : Arch. ital. chir. 39, 519 (1935)
117. Ypsilanti, H. : Klin. Wschr. 1935, 90
118. Frey, J.R. : Dermatologica 104, 80 (1952)
Schock, M.A.
119. Rodahl, K. : Biochem. J. 37, 166 (1943)
Moore, T.
120. Papke, W. : Z. Exper. Med. 101, 648 (1937)
121. Lasnitzki, I. : Experimentell Cell Research 8, 121-125
(1955)
122. Johnson, R.L. : Arch. Biochem. 14, 361 (1947)
Baumann, C.A.
123. Davies, A.W. : Biochem. J. 47, 6 (1950)
Moore, T.
124. Lemley, J.M. : J. Nutrit. 33, 53 (1947)
Brown, R.A.
Bird, O.O.
Emmett, A.D.
125. Davies, A.W. : Biochem. J. 42, 63 (1948)
Moore, T.
126. High, E.G. : J. Nutrit. 43, 245 (1951)
Day, H.G.

127. Callison, E.C. : Amer. J. Physiol. 143, 444 (1945)
Knowles, V.H.
128. Moore, T. : Biochem. J. 47, 43 (1950)
Sharman, I.M.
129. Coward, K.H. : Brit. med. J. 1942, I. 435
130. Popper, H. : J. Nutrit. 23, 431 (1942)
Brenner, S.
131. Coates, M.E. : Biochem. J. 46, 30 (1950)
Thompson, S.Y.
Kon, S.K.
132. Eden, E. : Biochem. J. 42, 49 (1948)
Sellers, K.C.
133. High, E.G. : Arch. Biochem. 49, 19 (1954)
134. Thompson, S.Y. : Brit. J. Nutrit. 3, 50 (1949)
Ganguly, J.
Kon, S.K.
135. Bendich, A. : J. biol. Ch. 203, 305 (1953)
Russel, P.J.
Brown, G.B.
136. Jeener, R. : Arch. Biochem. 26, 54 (1950)
Szafarz, D.
137. Roth, J.S. : J. biol. Ch. 208, 181 (1954)
138. Allfrey, V. : J. gen. Physiol. 36, 227 (1952)
Mirsky, A.E.
139. Lutwak-Mann, C. : Biochem. J. 48, 25 (1951)
140. Drochmans, P. : Exper. 3, 421 (1947)
141. Chargaff, E. : The Nucleic Acids
Davidson, J.N. Academic Press Inc.,
Publishers New York 1955, S. 375
142. Flaschenträger, B. : Physiol. Chemie, der Stoffwechsel,
Lehnartz, E. Springer-Verlag 1954, S. 1182
143. Brüggemann, J. : Milchwissenschaft 10, 223 (1955)
Niesar, K.H.
144. Leuchtenberger, C. : Proc. Nat. Acad. Sci. USA
Vendrely, R. 37, 33-38, (1951)
Vendrely, C.
145. Kosterlitz, J. : Physiol. 106, 194 (1947)

146. ... : Noch nicht veröffentlichte Untersuchungen
des Inst. f. Physiol. und Ernährung d.
Tiere der Universität München.
147. Garbe, K. : Dissertation München, noch nicht ver-
öffentlicht.
148. Jäger, O. : Dissertation München, noch nicht veröffent-
licht.
149. Flaschenträger, B. : Physiol. Chemie, die Stoffe,
Lehnartz, E. Springer-Verlag 1951, S. 823.

Zum Abschluß der vorliegenden Arbeit möchte ich Herrn Professor Dr. Dr. B r ü g g e m a n n für die Überlassung des Themas und für die großzügig gewährten Arbeitsmöglichkeiten in seinem Institut meinen besonderen Dank aussprechen.

Ferner gebührt mein Dank Herrn Dr. N i e s a r, der mich bei der Durchführung der Versuche und der Abfassung der Arbeit beraten hat.

Lebenslauf

Am 22. März 1930 wurde ich als ältestes von vier Kindern des Landwirts Peter Schaffrath und seiner Ehefrau Maria geb. Plymackers zu Niederheid Kreis Geilenkirchen geboren.

Von 1936 bis 1940 besuchte ich die Volksschule zu Geilenkirchen, anschließend bis zum Herbst 1944 die Oberschule in Heinsberg. Durch direkte Kriegseinwirkungen bedingt, verbrachte ich mit meinen Eltern und Geschwistern zwei Jahre in der Evakuierung. Seit Juni 1946 besuchte ich das Städtische Gymnasium zu Herzogenrath, wo ich am 16.2.1951 das Reifezeugnis erwarb.

Nach Ableistung des studentischen Ehrendienstes im Institut für Nahrungsmittelkunde der Tierärztlichen Fakultät der Universität München, begann ich dort im Frühjahr 1952 mit dem Studium der Veterinärmedizin. Am 25. Februar 1954 legte ich die tierärztliche Vorprüfung ab, und am 22.11.1956 bestand ich die tierärztliche Prüfung.

